

# **Diplomarbeit**

## **Der diagnostische Stellenwert & die Utilität der Anti-HMGCR- sowie Anti-cN1A-Autoantikörperdetek- tion mittels Line-Immunoassay für den klinischen Alltag:**

### **Eine retrospektive Studie**

eingereicht von

**Katarina Šarčević**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde (Dr.<sup>(in)</sup> med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin/**

**Klinischen Abteilung für Rheumatologie und Immunologie**

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. med. univ. Martin Helmut Stradner

Dr.<sup>(in)</sup> med. univ. Monica D'Orazio

Graz, 13.01.2025

## Eidesstattliche Erklärung

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI)-Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.*

*Graz, 13.01.2025*

*Katarina Šarčević eh.*

## Danksagung

Zunächst möchte ich meinen allerherzlichsten Dank meinen Betreuern, Herrn Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. Stradner Martin Helmut sowie Frau Dr.<sup>in</sup> D’Orazio Monica aussprechen, welche mir durch ihr außerordentliches Engagement die Möglichkeit geboten haben, meine Diplomarbeit an der Klinischen Abteilung für Rheumatologie & Immunologie zu verfassen. Zusätzlich bedanken möchte ich mich für die Unterstützung bei der Themenfindung. Voller Hochachtung blicke ich auf deren einwandfreie Betreuung zurück, die maßgeblich zum wunschgemäßen Ablauf des Verfassens der vorliegenden Arbeit beitrug.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Dr.<sup>in</sup> D’Orazio für ihre wertvolle Unterstützung, ihre stets konstruktive Kritik, ihre außerordentliche Motivation, ihre fachliche Kompetenz und ihr stets offenes Ohr bedanken, welches mir den Einstieg in die Welt des wissenschaftlichen Arbeitens erleichterte.

Mein außerordentlicher Dank gebührt außerdem meiner Familie. Bei meinen Eltern Josipa und Vlado möchte ich mich für ihre stetige Priorisierung meiner Lebensziele und -wünsche bedanken sowie für deren unendliche Mühe, welche die Absolvierung des Studiums und in Folge meine weitere berufliche Laufbahn ermöglichten. Meiner älteren Schwester Ružica gebühren außerdem mein Respekt sowie meine Dankbarkeit für ihre stets motivierende und anspornende Art, mit der sie mir stets ein Vorbild war. Eure Fürsorge, eure unendliche Geduld sowie eure Stütze und euer Rückhalt trugen mich durch sämtliche Lebensphasen, so auch durch diese. Euch an meiner Seite zu haben ist ein Glück, welches nicht in Worte zu fassen ist.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Professoren und Professorinnen bedanken, deren mir vermitteltes Wissen mich ein Leben lang begleiten soll.

Abschließend gebührt mein Dank meinen Freunden und Freundinnen, die sich in sämtlichen Phasen des Studiums, und nun auch in dieser abschließenden und herausfordernden Zeit, als treue Lebensbegleiter bzw. -begleiterinnen erwiesen sowie meinen Kommilitonen und Kommilitoninnen, welche meine Studienzeit zu einem wahrlich unvergesslichen Lebensabschnitt gemacht haben.

## Zusammenfassung

**Theoretischer Hintergrund:** Obgleich das Screening auf das Vorliegen von Myositis-spezifischen Antikörpern (MSA), zu welchen laut dem aktuellen Stand der Forschung auch der in der vorliegenden Diagnosestudie berücksichtigte *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörper zählt, mittels Line-Immunoassay (LIA), im Klinikalltag im Setting einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Myositis, häufig erfolgt bzw. die Anwendung dessen als primär diagnostisches Tool im Kontext einer lediglich suspektierten idiopathisch inflammatorischen Myopathie (IIM) bereits international gängige Praxis zu sein scheint, sind die tatsächliche Utilität der LIA-Testung auf das Vorliegen dieser beiden Myositisautoantikörper für die Diagnosestellung dieser Erkrankung im Klinikalltag und deren diagnostischer Stellenwert noch unklar.

**Materialien & Methoden:** Im Zuge dieser retrospektiven Datenanalyse wurden die klinisch gestellten Diagnosen von Individuen, deren Sera mittels LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) auf die Präsenz von *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörpern getestet wurden, aus deren elektronischen Krankenakten – als Goldstandard zur Berechnung der klinischen Sensitivität und Spezifität der beiden Antikörper – entnommen. Additiv wurden sowohl deren positive und negative Likelihood-Quotienten (LQ) als auch deren negative (NPV) und positive Vorhersagewerte (PPV) für das tatsächliche Vorliegen einer IIM berechnet, um primär darauf basierend Aussagen über die Utilität dieser Testung für die Diagnosestellung einer IIM treffen zu können.

**Ergebnisse:** 1.910 Sera wurden im Immunologielabor des Grazer Universitätsklinikums im Zeitraum von Oktober 2020 bis Oktober 2021 auf das Vorliegen dieser beiden Autoantikörper getestet. Schlussendlich standen die klinischen Daten von 1.076 Personen, deren elektronische Krankenakten einen ausreichenden Datengehalt aufwiesen, zur weiteren statistischen Datenanalyse zur Verfügung. 987 Personen, worunter sich 44 IIM-Patienten und -Patientinnen befanden, wurden mittels LIA negativ auf das Vorliegen dieser beiden Autoantikörper getestet, wohingegen in Summe 89 Individuen, worunter sich 17 Personen mit der klinisch gestellten Diagnose einer IIM befanden, entweder eine *Anti-HMGCR*- oder eine *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität aufwiesen. Der PPV des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers für das Vorliegen einer IIM lag, bei einer klinischen Spezifität von 96.85 % und einer klinischen Sensitivität von 18.03 %, bei 25.58 %. Der PPV des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers

für das Vorliegen dieser Erkrankung wiederum beträgt, bei einer klinischen Spezifität von 96.06 % und einer klinischen Sensitivität von 9.84 %, lediglich 13.04 %. Anhand von Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analysen konnten neue, potenziell künftig im Klinikalltag anwendbare Signalintensitätsschwellenwerte für die Definition einer *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität identifiziert werden. Hierdurch konnte die Anzahl inkorrekt positiver Testresultate reduziert und der PPV des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers für das Vorliegen der Erkrankung bei gleichbleibender klinischer Sensitivität, auf 42.30 % sowie jener des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers auf 17.10 % erhöht werden.

**Schlussfolgerung:** Zumal die Nutzung des MSA-Screenings mittels LIA als Diagnostiktool – im Setting einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer IIM – eine basierend auf den Resultaten der vorliegenden Diplomarbeit bereits weitverbreitete Praxis zu sein scheint, sollten sich Kliniker und Klinikerinnen vor allem darüber im Klaren sein, dass die alltägliche Anwendung der *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörpertestung mittels LIA in eben diesem Kontext in niedrigen PPVs für diese Autoantikörper resultiert. Dies wiederum limitiert die Utilität einer solchen Testung auf das Vorliegen der beiden Antikörper für die Diagnosestellung einer IIM bzw. für den klinischen Alltag.

**Schlüsselwörter:** *Anti-cNIA*-Autoantikörper, *Anti-HMGCR*-Autoantikörper, diagnostischer Nutzen, Idiopathisch inflammatorische Myopathie, Line-Immunoassay, Real-Life-Stichprobe

## Abstract

**Theoretical background:** Screening for the presence of myositis-specific antibodies (MSA), to which, according to the current state of research, the *anti-HMGCR*-, as well as the *anti-cN1A* autoantibody belongs, using a line-immunoassay (LIA), is frequently carried out in everyday clinical practice. The latter is therefore primarily carried out in the setting of a low pre-test probability for the presence of myositis. Even though the use of this detection method as a diagnostic tool in the context of merely suspected idiopathic inflammatory myopathy (IIM) already appears to be common practice internationally, the actual usefulness of LIA testing for the presence of these two myositis-autoantibodies for the diagnosis of this disease in everyday clinical practice, as well as its diagnostic value, remains unclear.

**Materials & Methods:** In the course of this retrospective data analysis the clinical diagnoses of individuals, whose sera were tested for the presence of *anti-HMGCR*- and *anti-cN1A* autoantibodies using a LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatory Myopathies 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Germany), were extracted from their electronic medical records to serve as the gold standard for calculating the clinical sensitivity and specificity of the two antibodies. In addition, their positive and negative likelihood ratios (LQ), as well as their negative (NPV) and positive predictive values (PPV) for the actual presence of IIM were calculated, based upon whom we aimed to make statements about the usefulness of such antibody testing for the diagnosis of IIM.

**Results:** 1.910 sera were tested for the presence of these two autoantibodies in the Immunology Laboratory at the University Hospital of Graz between October 2020 and October 2021. Ultimately, the clinical data of 1.076 people, whose electronic medical records contained a sufficient amount of such data, were used for further statistical analysis. 987 individuals, including 44 IIM patients, tested negative for the presence of these two autoantibodies, while a total of 89 sera, including the sera of 17 individuals with a clinical diagnosis of IIM, tested positive for the presence of either *anti-HMGCR*- or *anti-cN1A* autoantibodies. While the calculated PPV of the *anti-HMGCR* autoantibody for the presence of IIM, whose clinical specificity and clinical sensitivity was 96.85 % and 18.03 % respectively, was 25.58 %, the calculated PPV of the *anti-cN1A* autoantibody for the presence of this disease, whose clinical specificity and clinical sensitivity was 96.06 % and 9.84 % respectively, was 13.04 %. Performing Receiver operating characteristic (ROC)-analyses, we were able to identify new signal intensity thresholds for the definition of an *anti-HMGCR*- and an *anti-*

*cNIA* autoantibody-positivity which, while maintaining the same clinical sensitivities, resulted in the reduction of the number of false positive test results and an increase of the PPV of the *anti-HMGCR* autoantibody for the presence of the disease to 42.30 % and that of the *anti-cNIA* autoantibody to 17.10 %. Therefore, those newly identified thresholds might potentially be used in everyday clinical practice in the future.

**Conclusion:** Since the use of MSA screening using a LIA as a diagnostic tool in the setting of a low pre-test probability for the presence of IIM already appears to be, according to the results of this diploma thesis, a widespread practice, clinicians should especially be aware of the fact that the everyday use of *anti-HMGCR*- and *anti-cNIA* autoantibody testing using a LIA in precisely this context results in low PPVs for these autoantibodies. In turn, this reduces the actual usefulness of testing sera for the presence of these two antibodies, using this particular detection method, for the diagnosis of IIM in everyday clinical practice.

**Keywords:** *anti-cNIA* autoantibody, *anti-HMGCR* autoantibody, clinical utility, idiopathic inflammatory myopathy, line-immunoassay, Real-life cohort

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen und deren Erklärung</b> .....	<b>1</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>4</b>
<b>1 Einleitung &amp; theoretischer Hintergrund</b> .....	<b>6</b>
1.1 Einführung in die Thematik & Gliederung der Einleitung .....	6
1.1.1 Elemente des diagnostischen Work-ups .....	7
1.2 Die Einteilung der Idiopathisch inflammatorischen Myopathien entsprechend der 2017 etablierten ACR/ EULAR Klassifikation .....	10
1.2.1 Vergleichendes Anführen ausgewählter historischer Einteilungssysteme .....	16
1.3 Die Rolle der Myositis-spezifischen Antikörper .....	19
1.3.1 Ein wesentlicher Umbruch: Die aktualisierte Einteilung der idiopathisch inflammatorischen Myopathien unter Berücksichtigung der Autoantikörper ..	21
1.4 Die Entdeckung zweier neuer Autoantikörper mit unbekanntem Substrat: Die Anti-200/100-Proteine.....	24
1.4.1 HMGCR: Die Identifikation des fehlenden Gegenstückes zu den Anti- 200/100-Autoantikörpern.....	25
1.4.2 Die Rolle der Statine in Bezug auf die HMGCR .....	27
1.4.3 Die Immunmedierte nekrotisierende Myopathie (IMNM) .....	28
1.5 Die Detektion eines weiteren unbekanntem Autoantikörpers: Der Anti-43- kDa-Autoantikörper.....	32
1.5.1 cN1A: Die Identifikation des fehlenden Gegenstückes zum Anti-43-kDa- Autoantikörper .....	33
1.5.2 Die Einschlusskörperchenmyositis (IBM) .....	34
1.6 Ausgewählte MSA-Detektionsmethoden.....	40
1.6.1 Die Goldstandardmethode (IP).....	41
1.6.2 Der Line-Immunoassay (LIA) .....	43
1.6.3 Die Reliabilität des Line-Immunoassays.....	44
1.6.4 Die Validität des Line-Immunoassays .....	45
1.7 Aufzeigen der Forschungslücke .....	48
1.7.1 Die Intention der vorliegenden Arbeit & Forschungshypothese.....	51
<b>2 Patienten &amp; Patientinnen, Material &amp; Methoden</b> .....	<b>54</b>
2.1 Patienten- & Patientinnengut, Stichprobenumfang & Aufbereitung der Listendatei .....	54
2.2 Materialien des Testkits .....	56
2.3 MSA-Line-Immunoassay.....	56
2.3.1 Inkubations- & Arbeitsschritte.....	56
2.3.2 Digitale Teststreifenbewertung & Interpretation.....	59
2.4 Patienten- & Patientinnendaten .....	64
2.5 Statistische Datenanalyse.....	65

2.5.1 Kennzahlen des mittels LIA detektierten Anti-HMGCR- & Anti-cN1A-Autoantikörpers .....	65
2.5.2 Korrelationsanalysen .....	66
2.5.3 ROC-Analysen .....	67
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>68</b>
3.1 Beschreibung des Studienkollektivs & der LIA-Testanforderungen .....	68
3.2 Multiple MSA-Positivitäten vor dem Hintergrund einer Anti-HMGCR- oder Anti-cN1A-Autoantikörperpositivität .....	71
3.3 Beschreibung der finalen Stichprobe .....	73
3.4 Erkrankungsspektrum anti-HMGCR- sowie anti-cN1A-Autoantikörperpositiver Individuen .....	76
3.5 Validität definierende Kennzahlen, Vorhersagewerte & LQ der mittels LIA detektierten MSA .....	79
3.6 PPV des Anti-HMGCR- bzw. Anti-cN1A-Autoantikörpers für das Vorliegen einer anderweitigen Autoimmun- bzw. Malignomerkrankung .....	82
3.7 Korrelationen zwischen dem Personentalter & den MSA-Titerhöhen .....	84
3.8 ROC-Analysen zur Identifikation spezifischerer Schwellenwerte .....	87
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>92</b>
4.1 Die Art der Anwendung des MSA-Screenings mittels LIA im Klinikalltag .....	92
4.2 Der diagnostische Stellenwert & die Utilität der Anti-HMGCR- sowie der Anti-cN1A-LIA-Testung für den Klinikalltag .....	94
4.3 Erkrankungsspektrum positiv getesteter Individuen & Optimierung der klinischen Spezifität der Autoantikörper für die Gruppe der IIM .....	96
4.4 Korrelationen .....	99
4.5 Limitationen der Studie .....	100
4.6 Conclusio .....	101
<b>5 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>102</b>

## Abkürzungen und deren Erklärung

ACR.....	American College of Rheumatology
ADM.....	Amyopathische Dermatomyositis
Ag.....	Antigen
ALS.....	Amyotrophe Lateralsklerose
ALT.....	Alanin-Aminotransferase
ANA.....	Antinukleärer Antikörper
AP.....	Alkalische Phosphatase
ARS.....	Aminoacyl-tRNA-Synthetasen
AST.....	Aspartat-Aminotransferase
ASyS.....	Antisynthetasesyndrom
AUC.....	Fläche unter der Kurve
Beta-HMG-CoA.....	Beta-Hydroxy-beta-Methylglutaryl-Coenzym A
bzw.....	beziehungsweise
CADM.....	klinisch-amyopathische Dermatomyositis
CAM.....	krebsassoziierte Myositis
CCR5.....	CC-Motiv-Chemokinrezeptor-5
CK.....	Creatinkinase
cN1A.....	zytosolische 5'-Nukleotidase 1A
COX.....	Cytochrom-c-Oxidase
DM.....	Dermatomyositis
ELISA.....	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMG.....	Elektromyografie
ENMC.....	European Neuromuscular Centre
EULAR.....	European League Against Rheumatism
FHL1.....	Four-and-a-Half-LIM-Protein-1
H&E.....	Hämatoxylin & Eosin
HEp2.....	Humanes-Typ-2-Epithel
HIV.....	Humanes Immundefizienzvirus
HLA.....	Humanes Leukozytenantigen
HMGCR.....	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym A Reduktase
HTLV1.....	Humanes T-lymphotropes Virus 1
IBM.....	Einschlusskörperchenmyositis
IgG.....	Immunglobulin-G
IIF.....	Indirekte Immunfluoreszenz
IIM.....	Idiopathisch inflammatorische Myopathie
ILD.....	Interstitielle Lungenerkrankung
IMNM.....	Immunmedierte nekrotisierende Myopathie
IP.....	Immunpräzipitation
IU/L.....	Internationale Einheiten/Liter
JDM.....	Juvenile Dermatomyositis
kDa.....	Kilodalton
LDH.....	Laktatdehydrogenase
LIA.....	Line-Immunoassay
LQ.....	Likelihood-Quotient
MAA.....	Myositis-assoziiertes Antikörper
MAC.....	Membranangriffskomplex
MDA-5.....	Melanom-Differenzierungsantigen-5
MHC.....	Haupthistokompatibilitätskomplex

ml	.....	Milliliter
MRT	.....	Magnetresonanztomografie
MSA	.....	Myositis-spezifischer Antikörper
MUP	.....	Potenzial der Motorischen Einheit
MUP44	.....	M, 44.000 Polypeptid
NBT/BCIP	.....	Nitroblautetrazoliumchlorid/5-Brom-4-chlor-3-indolylphosphat
NCAM	.....	Neurales Zelladhäsionsmolekül
NM	.....	Nekrotisierende Myopathie
NPV	.....	Negativer prädiktiver Wert
NXP2	.....	Nukleäres-Matrixprotein-2
OE	.....	Obere Extremität
OM	.....	Overlap-Myositis
P	.....	Wahrscheinlichkeit
PM	.....	Polymyositis
PMAT	.....	Partikelbasierte Multianalyt-Technologie
PPV	.....	Positiver prädiktiver Wert
ROC	.....	Receiver Operating Characteristic
RT	.....	Raumtemperatur
SAE1	.....	SUMO-Aktivierungsenzym-1
SDS-PAGE	.....	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
SjS	.....	Sjögren-Syndrom
SLE	.....	Systemischer Lupus erythematoses
SRP	.....	Signalerkennungspartikel
SSc	.....	Systemische Sklerose
TDP-43	.....	Transactive response DNA binding protein-43
TIF-1 $\gamma$	.....	Transcription-Intermediary-Factor-1 $\gamma$
UE	.....	Untere Extremität
ULN	.....	Obergrenze des Normalbereichs
U1RNP	.....	U1 Ribonukleoprotein
vs.	.....	versus
$\mu$ l	.....	Mikroliter
$^{\circ}$ C	.....	Grad Celsius

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> ACR/ EULAR Einteilungsbaum zur Zuteilung eines Individuums zu einem IIM-Subset entsprechend dem 2. Überprüfungsschritt (erstellt basierend auf dem Einteilungsbaum aus Lundberg et al. (5)).	15
<b>Abbildung 2:</b> Die Weiterentwicklung der IIM-Klassifikation unter der Einbeziehung der MSA/ MAA (erstellt basierend auf den Informationen aus Lundberg et al. und Mariampillai et al. (5,6)).	23
<b>Abbildung 3:</b> Flussdiagramm zur Darstellung des Prozesses der Listenaufbereitung sowie der konsekutiven Datenanalyse.	55
<b>Abbildung 4:</b> Arbeitsprozess der Durchführung des im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz angewandten LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) (erstellt basierend auf den Informationen aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).	59
<b>Abbildung 5:</b> Auswerteprotokoll mit zwei Anti-HMGCR-Banden (rot umrandet) auf den Teststreifen 5 und 13 (Pfeile) sowie den entsprechenden Kontrollbanden (gelb umrandet). Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.	60
<b>Abbildung 6:</b> Auswerteprotokoll mit einer Anti-cN1A-Bande (rot umrandet) auf dem Teststreifen 16 (Pfeil) sowie die entsprechende Kontrollbande (gelb umrandet). Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.	61
<b>Abbildung 7:</b> Flachbettscanner zum Einscannen der Auswerteprotokolle. Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.	62
<b>Abbildung 8.</b> Flussdiagramm zur Darstellung der IIM-Subgruppenverteilung in der finalen Stichprobe.	74
<b>Abbildung 9.</b> Streudiagramm zur Darstellung eines Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der Anti-HMGCR-Titerhöhe.	84
<b>Abbildung 10.</b> Streudiagramm zur Darstellung eines Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der Anti-cN1A-Titerhöhe.	86
<b>Abbildung 11.</b> Basierend auf den testcharakterisierenden Kennzahlen ausgewählter Anti-HMGCR-Autoantikörpertiter erstellte ROC-Kurve.	87
<b>Abbildung 12.</b> Basierend auf den testcharakterisierenden Kennzahlen ausgewählter Anti-cN1A-Autoantikörpertiter erstellte ROC-Kurve.	89

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> ACR/ EULAR IIM-Klassifikationskriterien (2017) für die juvenile und adulte Erkrankungsform (erstellt basierend auf der Tabelle aus Lundberg et al. (5)).	11
<b>Tabelle 2:</b> Gesamtscores inklusive der korrespondierenden P(IIM) entsprechend den 4 Gruppen des 1. Überprüfungsschrittes (erstellt basierend auf den Informationen aus Lundberg et al. (5)).	14
<b>Tabelle 3:</b> Klassifikations- und Diagnostikkriterien nach Bohan und Peter (1975) (erstellt basierend auf den Informationen aus Bohan und Peter (11,12)).	17
<b>Tabelle 4:</b> MSA und MAA inklusive ihrer Zielautoantigene und den damit assoziierten IIM-Subsets (erstellt basierend auf der Tabelle aus Ghirardello et al. (17)).	21
<b>Tabelle 5:</b> Testsatzbestandteile des Line-Immunoassays (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) (erstellt basierend auf der Tabelle aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).	56
<b>Tabelle 6:</b> Herstellerempfehlung bezüglich der Interpretation der digitalen Teststreifenauswertung (erstellt basierend auf der Tabelle aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).	63
<b>Tabelle 7:</b> Eine die Entscheidungsmöglichkeiten des LIA-Testverfahrens darstellende Vierfeldertafel (erstellt basierend auf der Vierfeldertafel aus Held, 2013 (71)).	65
<b>Tabelle 8.</b> Häufigkeiten der Myositisblot-anfordernden Fachrichtungen bzw. Häuser in der ungekürzten Stichprobe.	69
<b>Tabelle 9.</b> Häufigkeiten der LIA-Anforderungsgründe in der ungekürzten Stichprobe (Prozentangaben repräsentieren den relativen Anteil an der Anzahl der Myositisblotanforderungen der ungekürzten Stichprobe).	70
<b>Tabelle 10.</b> Häufigkeiten isoliert anti-HMGCR- bzw. anti-cN1A- sowie mehrfach MSA/MAA-positiver Individuen in der ungekürzten Stichprobe.	72
<b>Tabelle 11.</b> Kreuztabelle zur Darstellung der Geschlechterverteilung in den Gruppen „Non-IIM“ sowie „IIM“ der finalen Stichprobe.	75
<b>Tabelle 12.</b> Kennzahlen zur Beschreibung der Alters- und Autoantikörpertiterverteilung in der finalen Stichprobe.	75
<b>Tabelle 13.</b> Häufigkeiten ausgewählter Diagnosen bei Autoantikörper-positiven Individuen der finalen Stichprobe.*	76
<b>Tabelle 14.</b> Häufigkeiten angeführter Autoimmunerkrankungen bei Autoantikörper-positiven Individuen der finalen Stichprobe (Prozentangaben repräsentieren den relativen Anteil an der Anzahl positiv getesteter Individuen).*	77
<b>Tabelle 15:</b> Eine die Entscheidungen des Anti-HMGCR- LIA-Testverfahrens sowie die entsprechenden absoluten Häufigkeiten darstellende Vierfeldertafel.	79
<b>Tabelle 16:</b> Eine die Entscheidungen des Anti-cN1A- LIA-Testverfahrens sowie die entsprechenden absoluten Häufigkeiten darstellende Vierfeldertafel.	80
<b>Tabelle 17.</b> Kennzahlen des mittels LIA detektierten Anti-HMGCR- und Anti-cN1A-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IIM.	80

<b>Tabelle 18.</b> Kennzahlen des mittels LIA detektierten Anti-HMGCR-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IMNM. ....	81
<b>Tabelle 19.</b> Kennzahlen des mittels LIA detektierten Anti-cN1A-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IBM. ....	81
<b>Tabelle 20.</b> Positive prädiktive Werte des Anti-HMGCR- und Anti-cN1A-Autoantikörpers im Kontext der klinisch gestellten Diagnose einer Malignom- bzw. Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM zuzuordnen ist. ....	83
<b>Tabelle 21.</b> Positive prädiktive Werte des Anti-cN1A-Autoantikörpers im Kontext der klinisch gestellten Diagnose eines SLE bzw. eines primären SjS. ....	83
<b>Tabelle 22.</b> Korrelationsanalyse zur Detektion eines statistisch signifikanten Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der Anti-HMGCR-Titerhöhe in der ungekürzten Stichprobe. ....	85
<b>Tabelle 23.</b> Korrelationsanalyse zur Detektion eines statistisch signifikanten Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der Anti-cN1A-Titerhöhe in der ungekürzten Stichprobe. ....	86
<b>Tabelle 24.</b> ROC-Analyse zur Identifikation spezifischerer Anti-HMGCR-Cut-off-Werte bezüglich des Vorliegens einer IIM. ....	88
<b>Tabelle 25.</b> ROC-Analyse zur Identifikation spezifischerer Anti-cN1A-Cut-off-Werte bezüglich des Vorliegens einer IIM. ....	90

# 1 Einleitung & theoretischer Hintergrund

## 1.1 Einführung in die Thematik & Gliederung der Einleitung

Die zeitgemäß als *Idiopathisch inflammatorische Myopathien* (IIM) bezeichnete Erkrankungsgruppe, welche ebenso dem Begriff der *Myositis* zugeordnet werden kann, bildet den Sammelbegriff für eine Reihe an heterogenen Erkrankungssubsets, welchen allesamt gemäß dem aktuellen Stand der Forschung ein autoimmuner Pathomechanismus zugrunde liegt (1). Exakte numerische Angaben zur wahrhaften Inzidenz der IIM in der Weltbevölkerung konnten der Literatur bislang nicht entnommen werden (2). Die Anzahl der Neuerkrankungen pro 100.000 Individuen pro Jahr variiert in der existenten Literatur global zwischen 0.2 bis 2, was wiederum das rare Auftreten dieser Erkrankungsgruppe widerspiegelt (2). Angaben zur globalen Prävalenz der IIM variieren der Literatur zufolge zwischen 2 und 25 Betroffenen je 100.000 Individuen (2).

Jene die Skelettmuskulatur affizierenden Autoimmunerkrankungen resultieren, dem Inflammationsprozess geschuldet, folglich in einer reduzierten Muskelkraft der betroffenen Muskelgruppen, welche im Wesentlichen durch ein subakut oder akutes Einsetzen sowie den typischerweise symmetrischen Befall der proximalen Extremitätenmuskulatur, insbesondere der des Becken- und Schultergürtels, charakterisiert ist. Myalgien, eine Nackenbeuger- oder in selteneren Fällen eine Nackenstreckerchwäche, Schwierigkeiten in Bezug auf die Absolvierung alltäglicher Aktivitäten, wie beispielsweise das Treppensteigen sowie das Anheben der oberen Extremitäten über die Horizontale, stellen ebenso potenzielle Komponenten des interindividuellen Symptomenkonglomerats dar (3,4).

Ein Überblick zu ausgewählten Klassifikations- und Unterteilungsmöglichkeiten (IIM-Subgruppen) obig genannter Erkrankungsgruppe soll in den nachfolgenden Kapiteln 1.2 sowie 1.3.1 gegeben werden. Deren Abwandlung, durch das Einbeziehen der für die IIM relevanten Autoantikörper, über die Zeit hinweg, soll ebenso dargestellt werden.

In Abhängigkeit der vorliegenden Erkrankungsuntergruppe einer IIM sowie des damit einhergehenden *Myositis-spezifischen Antikörpers* (MSA) können zudem sowohl eine pulmonale als auch kardiale Pathologie, welche isoliert oder in Kombination mit obig angeführten myopathischen Beschwerden auftreten, zur klinischen Manifestation der Erkrankung beitragen. Analog dazu stellen eine arthritische Gelenksbeteiligung sowie jene in Tabelle 1 ange-

führte Effloreszenzen, welche repräsentativ für die Affektion des Integuments sind, mögliche Teilkomponenten oder den einzigen Aspekt des klinischen Erscheinungsbildes der IIM dar. Die zuvor geschilderte Tatsache, welche unterstreicht, dass eine Krankheitsmanifestation extramuskulärer Natur der charakteristischen muskulären Beschwerdesymptomatik möglicherweise vorangeht oder gar anstelle dieser auftritt, zeigt die potenzielle Problematik bezüglich des Erkennens und der Diagnosestellung einer IIM auf. (4)

Die Utilität sowie die Relevanz krankheitsspezifischer biologischer Marker, wie der Autoantikörper, bezogen auf den Diagnostikprozess, sollen in Kapitel 1.3 verdeutlicht werden.

Die Kapitel 1.4 und 1.5 sollen der Erläuterung der Erstbeschreibung der beiden in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten Autoantikörper dienen. Anschließend soll in den Unterkapiteln 1.4.3 und 1.5.2 ein orientierender Überblick über die beiden mit diesen Autoantikörpern assoziierten Erkrankungsunterformen der IIM (*Anti-HMGCR*-positive-IMNM, IBM) gegeben werden. In der bestehenden Literatur werden jene beiden obig angeführten Erkrankungssubsets als primär den Skelettmuskel affizierende Entitäten ohne anderweitige Organmanifestation beschrieben (4). Um den Rahmen dieser Diplomarbeit nicht zu sprengen, wird somit nicht detaillierter auf mögliche extramuskuläre Komplikationen der IIM eingegangen.

Abschließend gibt Kapitel 1.6 einen Einblick in die Autoantikörper-Detektionsmethode des Line-Immunoassays (LIA), dessen Utilität und diagnostischer Stellenwert im klinischen Alltag, bezogen auf die Diagnosestellung der IIM, basierend auf der Testung auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*- sowie des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers im Rahmen der vorliegenden Arbeit evaluiert werden soll.

### 1.1.1 Elemente des diagnostischen Work-ups

Die in den folgenden Kapiteln 1.2 und 1.3.1 erläuterten Einteilungssysteme für die IIM fungieren primär als Tools zur Anwendung im Bereich der Forschung mithilfe derer die Zuordnung der betroffenen Individuen zu den entsprechenden Studienkohorten ermöglicht werden soll (5,6). Dies berücksichtigend sollen jene Klassifikationssysteme dem Kliniker oder der Klinikerin in erster Linie lediglich zur Orientierung dienen (4). An dieser Stelle soll betont werden, dass es die Forschung zu diesem Bereich bis dato nicht vermochte, formelle diagnostische Kriterien für das Erkrankungsbild der IIM hervorzubringen (4).

Die Klinik im Sinne der muskulären Schwäche, die oftmals als Leitsymptom der Erkrankung angeführt wird, zeichnet sich jedoch durch ihre geringe diagnostische Spezifität aus. Sofern im diagnostischen Work-up isoliert und nicht etwa in Kombination mit krankheitsspezifischen Autoantikörpern betrachtet, resultiert eine derartige diagnostische Herangehensweise potenziell in einer Fehldiagnose. (4)

Vor diesem Hintergrund werden im klinischen Alltag fallorientiert – ergänzend zur Erhebung der Anamnese und Erfassung der individuellen Klinik – Muskelbiopsien zur histopathologischen Befundung, schnittbildgebende Verfahren wie die Magnetresonanztomografie (MRT), neurophysiologische Diagnostikmethoden wie die Elektromyografie (EMG) sowie laborchemische Parameter wie etwa die Werte der Muskelenzyme Creatinkinase (CK), Aspartat-Aminotransferase (AST), Aldolase und Laktatdehydrogenase (LDH), welche repräsentativ für das Ausmaß der Muskeldestruktion sind, in den Diagnostikprozess eingebaut (3,4). Additiv sollte, wie in Kapitel 1.3 angeführt, die Testung auf gegebenenfalls präzente MSA und MAA in diesen Prozess miteinfließen (4).

#### 1.1.1.1 Elektromyografie

Der geringen diagnostischen Spezifität der Muskelenzymelevation sowie der ebenso geringen Spezifität der muskulären Symptomatik geschuldet erhält die EMG einen bedeutenden Part im diagnostischen Work-up (7). So ist es beispielsweise möglich, dass sowohl an Amyotropher Lateralsklerose (ALS) Erkrankte, welche eine Motoneuronerkrankung darstellt, als auch an IIM-Erkrankte eine erhöhte Serumkonzentration der Muskelenzyme und eine Schwäche der Muskulatur aufweisen (7). Die EMG erleichtert indessen die Differenzierung zwischen einer solchen neurodegenerativen und einer myopathischen Erkrankungsentität (8).

#### 1.1.1.2 Magnetresonanztomografie

Die Schnittbildgebung mittels MRT sowie die nachfolgende Beurteilung der Aufnahmen in den entsprechend gewichteten Sequenzen gestattet basierend auf detektierten Signalalterationen die Identifikation eines muskulären Ödems als Zeichen des aktiven Entzündungsprozesses (3,7). Ebenso gestattet die MRT-Bildgebung die Differenzierung zwischen dem obig angeführten Ödem und einem fettigen Umbau der betroffenen Muskulatur, welches wiederum ein Zeichen der chronischen Inflammation darstellt (3,7). Zusätzlich vereinfacht die bildgebende Diagnostik die Auswahl und Markierung einer adäquaten Biopsieentnahmestelle, welche primär eine hohe entzündliche Aktivität aufweisen soll (7).

### 1.1.1.3 Muskelbiopsie

Die Entnahme der Muskelbiopsie bzw. die nachfolgende histopathologische Befundung der Gewebeprobe stellt den derzeitigen Goldstandard zur Bestätigung einer potenziellen IIM-Diagnose dar (9). Sie dient primär der Detektion eines inflammatorischen Zellinfiltrates in der Skelettmuskulatur (9). Der Nutzen der Biopsie resultiert vor allem aus der Möglichkeit, potenzielle Differentialdiagnosen wie beispielsweise Myopathien metabolischen Ursprungs als auch Muskelpathologien degenerativer Natur mithilfe ihrer Befundung auszuschließen (4). Additiv tragen die histologisch identifizierten Merkmale zur Unterscheidung der einzelnen IIM-Subsets bei (4,10).

## 1.2 Die Einteilung der Idiopathisch inflammatorischen Myopathien entsprechend der 2017 etablierten ACR/ EULAR Klassifikation

Die IIM können gemäß der im Jahr 2017 etablierten Empfehlungen des *American College of Rheumatology* sowie der *European League Against Rheumatism* (ACR/ EULAR) in die nachfolgend angeführten Untergruppen unterteilt werden (5):

1. Polymyositis (PM)
2. Dermatomyositis (DM), Amyopathische Dermatomyositis (ADM), juvenile Dermatomyositis (JDM)
3. Einschlusskörperchenmyositis (IBM). (5)

Eine weitere eigenständige Entität, welche im entwickelten Entscheidungsbaum (Abbildung 1) dargestellt ist, stellt die Gruppe der sogenannten Immunmedierten nekrotisierenden Myopathien (IMNM) dar. Der geringen Anzahl an Studienteilnehmern und Studienteilnehmerinnen (11/976) geschuldet, welche diese Sonderform der IIM aufwiesen, wird die IMNM allerdings im Entscheidungsbaum der Gruppe der PM zugeordnet. (5)

Die Tatsache berücksichtigend, dass die Entwicklung von geeigneten als auch validierten Klassifikationssystemen von maßgeblicher Bedeutung für den Bereich der Forschung sowie in weiterer Folge für die Durchführung von klinischen Studien ist, wurde im Rahmen einer Multicenterstudie (47 Zentren weltweit) die entsprechende Klassifikation entwickelt. Eingeschlossen wurden dabei in Summe 976 an IIM-Erkrankte (25.5 % Kinder, 74.5 % Erwachsene) sowie 642 Kontrollen (18.4 % Kinder, 81.6 % Erwachsene), welche ihrerseits Pathologien aufwiesen, die wiederum mögliche Differentialdiagnosen der IIM darstellen. (5)

Das im Jahr 2017 etablierte Klassifikationssystem soll dabei, anhand der Beurteilung von im klinischen Alltag simpel erhebbaren laborchemischer sowie klinischer Parameter, vordergründig eine Unterscheidung einer IIM von ihren potenziellen Differentialdiagnosen, wie beispielsweise einer Muskeldystrophie, ermöglichen. An dieser Stelle ist es unerlässlich zu erwähnen, dass mit der Anwendung dieses Klassifikationssystems ausschließlich das Ziel verfolgt werden soll, Personen in entsprechende Kohorten einer Studie einzuordnen, dieses jedoch nicht dafür entwickelt wurde, per se die definitive Diagnose einer IIM zu stellen. (5)

Im Zuge des Projektes wurden hierzu neue, in Tabelle 1 ersichtliche, Klassifikationskriterien entwickelt, welche sich zu insgesamt 6 Gruppen, bestehend aus demographischen Daten,

klinisch erhobenen Merkmalen sowie laborchemisch und optional histopathologisch erhobenen Daten und deren jeweiligen Unterpunkten (16 Variablen), formieren. Dabei wurde in der oben erläuterten Stichprobe mittels statistischer Testverfahren (*Exakter Test nach Fisher*, Chancenverhältnis) zunächst die jeweilige Assoziation zwischen 93 von einem Expertenkomitee vordefinierten Variablen, welche ihrerseits partiell einer Reihe vorab publizierter Klassifikationssysteme entnommen wurden, sowie der entsprechenden Diagnose (Non-IIM vs. IIM) evaluiert. Final konnten, wie vorab angeführt, 16 folgend in Tabelle 1 angeführte Klassifikationskriterien eruiert werden, welche ihrerseits gemäß Lundberg et al. (5) die bestmögliche Differenzierung zwischen einer IIM sowie einer Non-IIM gestatteten. Konsekutiv erfolgte, basierend auf der individuellen Diskriminationsfähigkeit des Kriteriums (Non-IIM vs. IIM), die Gewichtung der einzelnen Klassifikationskriterien anhand der Zuteilung einer Punkteanzahl (Score) zu jeder Variable. Lundberg et al. (5) zufolge entspricht die jeweilige Gesamtpunkteanzahl wiederum einer bestimmten Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer IIM (P(IIM)) (Tabelle 2). (5)

**Tabelle 1: ACR/ EULAR IIM-Klassifikationskriterien (2017) für die juvenile und adulte Erkrankungsform (erstellt basierend auf der Tabelle aus Lundberg et al. (5)).**

6 Hauptgruppen der Klassifikationskriterien	16 Klassifikationskriterien	Variablenerläuterung	Score mit Histologie	Score ohne Histologie
Alter bei Erkrankungsbeginn	≥18 Jahre und <40 Jahre (erstmaliges Auftreten eines krankheitsassoziierten Symptoms)	Ein krankheitsassoziiertes Symptom tritt erstmalig in einem Alter von ≥18 bzw. <40 Jahren auf.	1.5	1.3
	≥40 Jahre (erstmaliges Auftreten eines krankheitsassoziierten Symptomes)	Ein krankheitsassoziiertes Symptom tritt erstmalig in einem Alter von ≥40 Jahren auf.	2.2	2.1
Muskuläre Schwäche	<b>Objektive symmetrische Muskelschwäche</b> proximaler Muskelgruppen der <b>oberen Extremitäten</b> ; diese zumeist fortschreitend	Beurteilung anhand des Resultates der manuellen Muskeltestung bzw. alternativer objektiver Muskelfunktionstests; die muskuläre Schwäche ist beidseits vorhanden sowie im Verlauf progressiv.	0.7	0.7
	<b>Objektive symmetrische Muskelschwäche</b> proximaler Muskelgruppen	Beurteilung anhand des Resultates der manuellen Muskeltestung bzw. alternativer	0.5	0.8

	der <b>unteren Extremitäten</b> ; diese zu- meist fortschreitend	objektiver Muskel- funktionstests; die muskuläre Schwä- che ist beidseits vor- handen sowie im Ver- lauf progressiv.		
	<b>Untere Extremität:</b> relatives Überwiegen der Schwäche der proximalen Muskeln im Vergleich zur Schwäche der dista- len Muskeln	Die erhobenen Kraft- grade (manuelle Mus- keltestung oder alter- nativer objektiver Muskefunktionstest) der proximalen Mus- keln sind im Vergleich zu jenen der distalen Muskeln relativ niedri- ger.	1.2	0.9
	<b>Nackermuskulatur:</b> relatives Überwiegen der Schwäche der Nackenbeuger im Vergleich zur Schwä- che der Nackenstre- cker	Die erhobenen Kraft- grade (manuelle Mus- keltestung oder alter- nativer objektiver Muskefunktionstest) der Nackenbeuger sind im Vergleich zu jenen der Nackenstre- cker relativ niedriger.	1.6	1.9
<b>Affektion des Integuments</b>	<b>Gottron-Zeichen</b>	Rötliche bis violette Maculae (im Hautni- veau) im Bereich der Gelenksstreckseiten; demnach nicht palpa- bel	3.7	3.3
	<b>Heliotroper Aus- schlag</b>	Rötliche oder violette periorbital bzw. im Bereich der Augenli- der lokalisierte Verfä- rbung; oftmals in Kom- bination mit einem pe- riorbitalen Ödem	3.2	3.1
	<b>Gottron-Papeln</b>	Im Bereich der Ge- lenksstreckseiten (Knie, Ellenbogen, Zehen, Finger, Knö- chel) lokalisierte rötli- che bis violette Pa- peln; fallweise schup- pend	2.7	2.1
<b>Anderweitige klinische Manifestationen</b>	<b>Ösophageale Moti- litätsstörung oder Dysphagie</b>	Objektivierbare ab- norme Ösophagus- motilität oder Schluck- problematik	0.6	0.7
<b>Laborchemische Parameter</b>	<b>Muskelenzymeleva- tion (Serumkonzentra- tion oberhalb des ULN):</b> -CK oder -LDH oder -AST oder -ALT	Es sollen die im Krankheitsverlauf am stärksten vom ULN (=Upper limit of nor- mal) abweichenden Testresultate berück- sichtigt werden.	1.4	1.3

	<b>Anti-Jo-1-Autoantikörper:</b> vorhanden	Der Autoantikörpernachweis (Serum) soll mittels validierter und standardisierter Detektionsmethode erfolgen; das Kriterium gilt bei positivem Testresultat als erfüllt.	3.8	3.9
<b>Histopathologisch detektierte Merkmale</b>	<b>Mononukleäres endomyxiales Zellinfiltrat;</b> entsprechende <b>umgeben die Muskelfasern, infiltrieren</b> diese aber <b>nicht</b> .	Umgebung (dem Sarkolemm anliegend) nicht-nekrotischer, gesunder Muskelfasern durch mononukleäre Zellen; dennoch kein Infiltrieren jener vermerkbar	1.7	-
	<b>Perivaskuläres und/oder perimysiales mononukleäres Zellinfiltrat</b>	Mononukleäre Zellen umgeben Blutgefäße (endomysiale oder perimysiale Gefäße) und/oder sind perimysial lokalisiert.	1.2	-
	<b>Geränderte Vakuolen</b>	In der H&E-Färbung bläulich imponierende Vakuolen; in der modifizierten Gomori-Trichrom-Färbung hingegen rötlich imponierend	3.1	-
	<b>Perifaszikuläre Atrophie</b>	Zahlreiche, histopathologisch detektierte, atrophe Muskelfasern im perifaszikulären Bereich; zentraler lokalisierte Muskelfasern imponieren weniger atroph	1.9	-

In einem ersten Überprüfungsschritt erfolgt demzufolge die Einordnung der Individuen mit suspizierter IIM oder Myopathie-assoziiierter Symptomatik in eine von vier über die Wahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer IIM definierten Gruppen (Tabelle 2) (5).

Die Person ist gemäß Lundberg et al. (5) dann als ein an IIM erkranktes Individuum in die Studie einzuschließen, sofern ein Gesamtscore von mindestens 5.5 Punkten vorliegt. Ist dies der Fall, so wird die betroffene Person der Gruppe „IIM wahrscheinlich vorliegend“ zugeteilt. Dies umgerechnet wiederum entspricht laut Lundberg et al. (5) einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 55 % für das Vorliegen einer IIM. Wird dieses Kriterium nicht erfüllt (Wahrscheinlichkeit von zumindest 50 %, jedoch unter 55 % für das Vorliegen einer IIM), so soll eine Zuteilung des Individuums in die Gruppe „möglicherweise vorliegende IIM“ erfolgen. Personen werden in die Gruppe „definitiv vorliegende IIM“ im Falle eines Gesamtscores von zumindest 7.5 Punkten (Wahrscheinlichkeit von mindestens 90 % für das

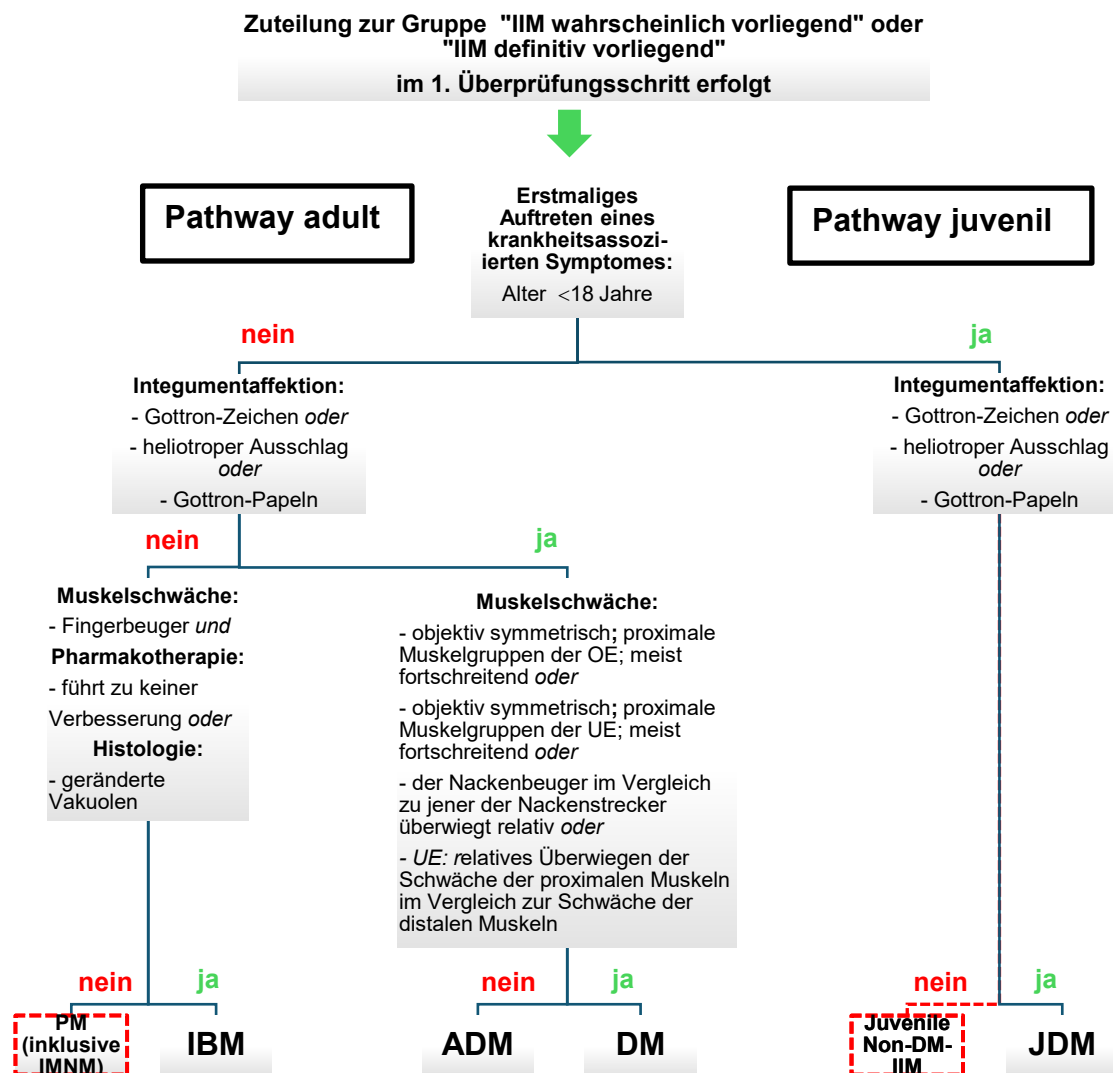
Vorliegen einer IIM) eingeordnet. Die Höhe der Cut-off-Werte der Gesamtpunkteanzahl wird dem etwaigen Vorliegen einer histopathologischen Befundung eines Muskelbiopsates angepasst (mindestens 6.7 Punkte respektive mindestens 8.7 Punkte). (5)

Das vorab Erläuterte wird folgend in Tabelle 2 zusammengefasst.

**Tabelle 2: Gesamtscores inklusive der korrespondierenden P(IIM) entsprechend den 4 Gruppen des 1. Überprüfungsschrittes (erstellt basierend auf den Informationen aus Lundberg et al. (5)).**

4 Gruppen des 1. Überprüfungsschrittes	P(IIM)	Gesamtscore inklusive Histologie	Gesamtscore ohne Histologie
„IIM möglicherweise vorliegend“ $\triangleq$ „possible IIM“	$\geq 50 \%$ ; $< 55 \%$	$\geq 6.5$ ; $< 6.7$	$\geq 5.3$ ; $< 5.5$
„IIM wahrscheinlich vorliegend“ $\triangleq$ „probable IIM“	$\geq 55 \%$	$\geq 6.7$	$\geq 5.5$
„IIM definitiv vorliegend“ $\triangleq$ „definite IIM“	$\geq 90 \%$	$\geq 8.7$	$\geq 7.5$
„Non-IIM“	$< 50 \%$	$< 6.5$	$< 5.3$

Bei zur Genüge vorliegendem Datengehalt kann konsekutiv in einem zweiten Überprüfungsschritt die Zuteilung zu einem der obig angeführten Subsets der IIM erfolgen. Die im Zuge dieses Projektes definierten Untergruppen der IIM werden im Einteilungsbaum (Abbildung 1) grafisch dargestellt. Zusätzlich ist gemäß Lundberg et al. (5) eine Anwendung des entsprechenden Klassifikationssystems bei Individuen mit suspizierter sogenannter Overlap-Myositis (OM) möglich. Diese beschreibt das überlappende Auftreten einer Myositis mit einer anderweitigen Kollagenose, wie beispielsweise dem Systemischen Lupus erythematoses (SLE). (5)



**Abbildung 1: ACR/ EULAR Einteilungsbaum zur Zuteilung eines Individuums zu einem IIM-Subset entsprechend dem 2. Überprüfungsschritt (erstellt basierend auf dem Einteilungsbaum aus Lundberg et al. (5)).**

In weiterer Folge wurde ein online anzuwendendes Rechensystem entwickelt (<http://www.imm.ki.se/biostatistics/calculators/iim/>), welches die Anwendung des im Jahr 2017 entwickelten Klassifikationssystems im Alltag einfacher gestalten soll. Als wesentlichen Output erhält der Anwender oder die Anwenderin folglich gleichzeitig neben der Gesamtpunkteanzahl die entsprechende Wahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer IIM (P(IIM)) sowie bei ausreichend vorhandenem Datengehalt die Zuordnung zu einem der oben angeführten IIM-Subsets. (5)

Gemäß Lundberg et al. (5) zeichnet sich jenes Klassifikationssystem insbesondere durch dessen beachtlich hohe Sensitivität und Spezifität (93 % respektive 88 % bei vorhandener

Histologie) aus. Ferner werden die überschaubare Anzahl der für die Klassifikation erforderlichen laborchemischen und klinischen Variablen sowie die Simplizität bezogen auf die Erhebung jener im klinischen Alltag als wesentliche Vorteile dieses Klassifikationssystems angeführt. (5)

Abschließend geben Lundberg et al. (5) jedoch den Einschluss eines einzelnen MSA (*Anti-Jo-1*-Autoantikörper) in das entwickelte Klassifikationssystem als wesentliche Limitation der Studie an. Lediglich dieser MSA konnte bei einem für die Datenanalyse ausreichenden Anteil von Studienteilnehmern und Studienteilnehmerinnen (1.062/1.618) vermerkt werden. Vor diesem Hintergrund wird folglich das Erfordernis nach einer Überarbeitung der Klassifikationskriterien betont. Entsprechend Lundberg et al. (5) setzt dies jedoch ein extensiveres Testen der an IIM-Erkrankten sowie der Kontrollen auf die Präsenz zahlreicherer Myositisautoantikörper mithilfe validierter Detektionsmethoden voraus. (5)

### 1.2.1 Vergleichendes Anführen ausgewählter historischer Einteilungssysteme

Den IIM wurde bereits im Jahr 1975 von Bohan und Peter (11,12) eine Klassifikation zugeteilt. Diese gestattete jedoch im Wesentlichen lediglich die Unterteilung in PM und DM. Zur Unterscheidung dieser beiden Subgruppen wurden im entsprechend publizierten Klassifikationssystem sowohl laborchemische Parameter wie die im Serum bestimmten Konzentrationen der Muskelenzyme, die Resultate der elektromyografischen Diagnostik als auch histopathologische Merkmale sowie die klinisch erhobene Symptomatik berücksichtigt. (11–13)

Gemäß Bohan und Peter (11) eignen sich deren in Tabelle 3 ersichtliche Kriterien sowohl zur Zuordnung betroffener Individuen zu den entsprechenden Studienkohorten als auch zur Nutzung im Rahmen der Diagnosestellung der beiden Erkrankungssubsets (PM, DM). Auch die Anwendung dieses Einteilungssystems resultiert, bezogen auf die Gruppe der PM und DM, basierend auf der Anzahl der erfüllten Kriterien, in einer Zuteilung des Individuums zu einer der drei Gruppen „definitiv vorliegend“, „wahrscheinlich vorliegend“ oder „möglichweise vorliegend“. (11)

**Tabelle 3: Klassifikations- und Diagnostikkriterien nach Bohan und Peter (1975) (erstellt basierend auf den Informationen aus Bohan und Peter (11,12)).**

5 Kategorien der Diagnostikkriterien	Diagnostikkriterium	Erläuterung des Kriteriums
<b>Muskelschwäche</b>	Schwäche der Gliedergürtelmuskulatur bzw. der vorderen Nackenbeuger +/- Schwäche der Atemmuskulatur oder Dysphagie	symmetrisch; proximale Muskelgruppen; fortschreitend über Wochen bzw. Monate
<b>Histologie</b>	Muskelfasernekrosen und -regeneration; mononukleäres Entzündungszellinfiltrat; Phagozytose; Muskelfaserdegeneration bzw.-atrophie; große Zellkerne mit prominenten Nukleoli	primär perivaskulär lokalisiertes Entzündungszellinfiltrat; primär perifaszikulär betonte Atrophie der Typ I und II Muskelfasern
<b>Laborchemische Parameter</b>	Muskelenzymelevation im Serum	primär CK; oftmals auch Aldolase, LDH, ALT, AST
<b>Elektromyografie</b>	charakteristische Trias	1.) MUP kleiner motorischer Einheiten polyphasisch, kurz andauernd 2.) hochfrequente, bizarre, sich wiederholende Entladungen 3.) positive scharfe Wellen, Fibrillationen, erhöhte Irritabilität der Fasern (= Insertionsaktivität gesteigert)
<b>Affektion des Integuments</b>	Ausschlag/Dermatitis	heliotroper Ausschlag; Gottron-Zeichen

Lundberg et al. (5) zufolge weist dieses Einteilungssystem jedoch neben dessen beachtlicher Sensitivität (98 %) eine im Vergleich zum im Jahr 2017 veröffentlichten Klassifikationssystem deutlich geringere Spezifität (55 %) für die Gruppe der IIM auf, welches wiederum durch Lundberg et al. (5) als wesentliche Limitation des im Jahr 1975 publizierten Einteilungssystems definiert wird (5,11).

Amato (14) empfahl Jahre später (2003), während der Abhaltung des 119. Internationalen Workshops des *European Neuromuscular Centers* (ENMC), die Etablierung eines alternativen Klassifikationssystems (14). Entsprechendes fokussiert sich neben der klinischen Symptomatik, der elektromyografischen Diagnostik sowie der Serumkonzentration der CK, primär auf histopathologisch zu identifizierende Charakteristika des Muskelbiopsates (14). MSA hingegen fließen auch in diese Klassifikation nicht mit ein (14). Basierend auf diesem Einteilungssystem erfolgt eine Unterteilung der IIM in fünf Subsets (14):

1. PM
2. DM
3. IBM
4. IMNM
5. unspezifische Myositis (unspezifisches perivaskulär bzw. perimysial lokalisiertes Zellinfiltrat, welches nicht dem histologischen Bild einer PM oder einer DM entspricht). (14)

Dieses Einteilungssystem jedoch weist Lundberg et al. (5) zufolge im Vergleich zu der im Jahr 2017 entwickelten Klassifikation eine geringere Rate an korrekt erfolgten Zuteilungen zu einer der Subgruppen der IIM sowie eine in Summe geringere Sensitivität (52 %) auf (5,14).

### 1.3 Die Rolle der Myositis-spezifischen Antikörper

Bei einem beachtlichen Anteil von Individuen, welche eine Form der Bindegeweberkrankung aufweisen, können Autoantikörper detektiert werden, welche sich ihrerseits gegen intrazellulär lokalisierte Autoantigene richten (15).

Dementsprechend können, in Abhängigkeit der angewandten Nachweismethode, bei einem Anteil von etwa 60 %–70 % der Kinder und adulten Individuen, welche an einer Form der IIM erkrankt sind, im Zuge des diagnostischen Prozesses Autoantikörper nachgewiesen werden (1,16,17). Die Suche nach neuen, noch unbekanntem Autoantikörpern dieser Erkrankungsgruppe sowie die konsekutive Identifikation deren Zielstrukturen dient somit als Anlass für stetige Forschung (18). Eine grobe Einteilung jener für die IIM relevanter Autoantikörper kann im Wesentlichen in zwei Untergruppen erfolgen (18):

1. *Myositis-spezifische Antikörper (MSA)*
2. *Myositis-assoziierte Antikörper (MAA)*. (18)

Die bis dato bekannten MSA und MAA sowie deren Zielautoantigene und die damit assoziierten IIM-Subsets können Tabelle 4 entnommen werden.

Entsprechend dieser Nomenklatur kann festgehalten werden, dass das entscheidende Charakteristikum der MSA ihre hohe Spezifität für die Erkrankungsgruppe der IIM ist (1). Zudem zeichnen sie sich durch das im jeweiligen Individuum isolierte Auftreten aus, was bedeutet, dass bei erfolgtem Nachweis eines bestimmten MSA typischerweise gleichzeitig kein weiterer MSA detektierbar ist (18). Dies gestattet es jenen biologischen Markern, zunehmend eine bedeutende Rolle als hilfreiches Tool im diagnostischen Work-up einzunehmen (18). Vermerkt werden kann, dass jeder detektierbare MSA einen Zusammenhang zu einem definierten klinischen Phänotyp der Erkrankung aufweist (18). Entsprechende krankheitsspezifische Antikörper demonstrieren somit ihre überragende Nützlichkeit und Bedeutung vor allem im Rahmen der Formierung von Erkrankungsuntergruppen, die ihrerseits ein homogenes klinisches Erscheinungsbild aufweisen (18). Auch die Zuordnung der Erkrankten zu eben diesen Subsets wird durch die Einbeziehung der MSA in entsprechende Klassifikationssysteme simplifiziert (18). Dieser Sachverhalt wird im folgenden Unterkapitel 1.3.1 dargestellt.

Gemäß McHugh et al. (18) soll das Screening auf MSA neben obig angeführter diagnostischer Funktion zusätzlich einen essenziellen Part in der Identifikation von Erkrankten, die ihrerseits ein erhöhtes Mortalitätsrisiko aufweisen, übernehmen. Exemplarisch kann an dieser Stelle die Assoziation zwischen der Präsenz von *Anti-Melanom-Differenzierungsantigen-5 (MDA-5)*-Autoantikörpern und dem erhöhten Risiko für das Entwickeln einer interstiellen Lungenerkrankung (ILD) als auch die Assoziation zwischen dem Vorhandensein von *Anti-Transcriptional-Intermediary-Factor-1 $\gamma$  (TIF-1 $\gamma$ )*- bzw. *Anti-Nukleäres-Matrixprotein-2 (NXP2)*-Autoantikörpern sowie dem Auftreten einer Neoplasie im Rahmen der adulten DM angeführt werden. Die zusätzliche Bedeutung der MSA in ihrer Rolle als potenzieller prognostischer Marker soll dadurch unterstrichen werden. (18)

Konklusiv stellt die Forschungsgruppe rund um McHugh (18) die Theorie auf, dass dem MSA-Screening künftig die Funktion des primären Diagnostiktools zugewiesen werden könne. Ein entsprechendes Screening könne demnach, bei entsprechendem Verdacht auf das Vorliegen einer IIM, möglicherweise im Sinne der Quartärprävention, der Ablöse invasiverer diagnostischer Methoden, wie beispielsweise der Skelettmuskelbiopsie, dienen. Additiv sollen eine Verkürzung der Verzögerung der Diagnosestellung sowie die konsekutive Etablierung einer adäquaten, patientengerechten bzw. individualisierten Pharmakotherapie positive Nebeneffekte einer MSA-Testung darstellen. (18)

Die vorliegende Arbeit fokussiert im Folgenden auf die Detektion des *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Autoantikörpers, welche der Untergruppe der MSA zugeordnet werden (18), mittels *Line-Immunoassay (LIA)*.

Den MAA hingegen wird deren Bezeichnung aufgrund der Tatsache zugeteilt, dass ihr Vorkommen nicht ausschließlich auf die Erkrankungsgruppe der IIM beschränkt ist (18). Deren Vorkommen wird in der Literatur zudem bei weiteren Erkrankungsentitäten bzw. im Rahmen anderweitiger Kollagenosen (Systemischer Lupus erythematoses, Systemische Sklerose) beschrieben, welches wiederum deren Spezifität für die Gruppe der IIM herabsetzt (1,18). Obgleich MSA, wie vorgängig angeführt, isoliert auftreten, ist ein gemeinsames Auftreten mehrerer MAA in einem einzelnen Individuum in seltenen Fällen möglich (1).

Tabelle 4: MSA und MAA inklusive ihrer Zielautoantigene und den damit assoziierten IIM-Subsets (erstellt basierend auf der Tabelle aus Ghirardello et al. (17)).

Autoantikörperkategorie	Autoantikörper	Zielautoantigen	IIM-Subset
<b>Myositis-spezifischer Autoantikörper (MSA)</b>	<b>Anti-cN1A</b>	zytosolische 5'-Nukleotidase 1A (= <b>muskelspezifisch</b> )	<b>IBM</b>
	<b>Anti-HMGCR</b>	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (= <b>muskelspezifisch</b> )	<b>statininduzierte IMNM</b>
	Anti-SRP	Signalerkennungspartikel	IMNM
	Anti-SAE1	SUMO-Aktivierungsenzym-1	CADM, DM
	Anti-FHL1	Four-and-a-Half LIM-Protein-1	ausgeprägte IIM inklusive Dysphagie
	Anti-MDA-5	Melanom-Differenzierungsantigen-5	CADM, JDM, DM
	Anti-TIF1 $\gamma$	Transcription-Intermediary-Factor-1 $\gamma$	CAM, DM
	Anti-NXP2	Nukleäres-Matrixprotein-2	CAM, JDM, DM
	Anti-Mi-2 (= Mi-2 $\alpha$ ; Mi-2 $\beta$ )	Nukleäre-DNA-Helikase ( $\alpha$ - und $\beta$ -Untereinheit)	DM
	Anti-ARS (= Jo-1; OJ; EJ; PL-7; PL-12)	Aminoacyl-tRNA-Synthetasen	ASyS, PM/DM
<b>Myositis-assoziiertes Autoantikörper (MAA)</b>	Anti-Ku	DNA-bindendes Protein	OM (mit SSc)
	Anti-Ro52	TRIM21	PM, DM, ASyS
	Anti-U1RNP	U1 Ribonukleoprotein	OM (mit SLE)
	Anti-PM/Scl (= PM/Scl-75; PM/Scl-100)	Ribonuklease (75- und 100-Untereinheit)	OM (mit SSc)

### 1.3.1 Ein wesentlicher Umbruch: Die aktualisierte Einteilung der idiopathisch inflammatorischen Myopathien unter Berücksichtigung der Autoantikörper

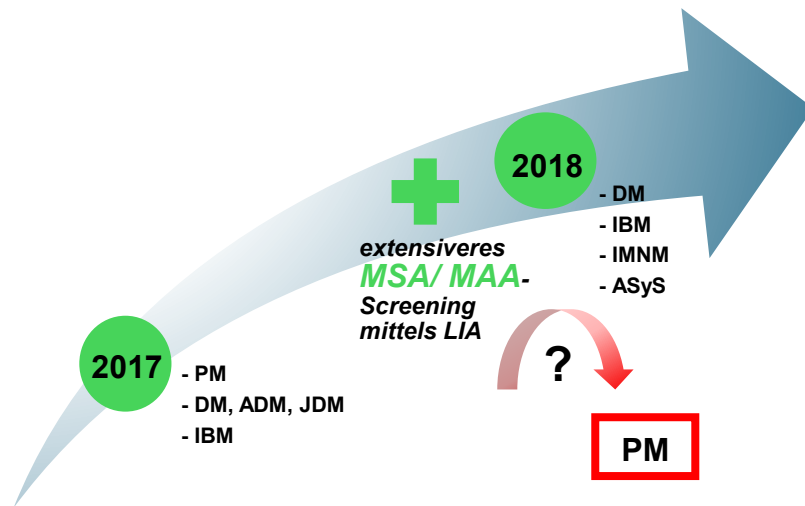
Anschließend an das im Jahr 2017 veröffentlichte Klassifikationssystem der ACR/ EULAR (5) sowie dessen in Kapitel 1.2 angeführte Limitation berücksichtigend entwickelte die Forschungsgruppe rund um Mariampillai (6) ein alternatives Einteilungssystem, das erstmalig ein Screening auf multiple MSA sowie MAA mittels LIA empfiehlt bzw. miteinbezieht (5,6). Sie bezogen dazu im Rahmen einer Multicenterstudie 260 adulte an einer IIM erkrankte Personen ein (6). Hierdurch wurde ein wesentlicher Grundstein für den Umdenkprozess bezogen auf die Einteilung der IIM in ihre möglichen Unterformen gelegt (6).

Mariampillai et al. (6) beschreiben ihre im Jahr 2018 veröffentlichte Arbeit somit als Extension des im Vorjahr veröffentlichten Einteilungssystems (6). Aktuelleres sollte primär der Zuweisung der Betroffenen zu deren bestimmten Untergruppe der IIM dienen (6). Lundberg et al. (5) hingegen verfolgten vordergründig das Ziel, an IIM erkrankte Individuen zu detektieren und diese darauffolgend in deren adäquate Studienkohorte einzuordnen, was wiederum dem ersten Überprüfungsschritt des in Kapitel 1.2 erläuterten Klassifikationssystems entspricht (5).

Allem voran gilt es auch hier zu betonen, dass das durch Mariampillai et al. (6) aufgestellte Klassifikationssystem seine Funktion ebenso wenig in der alltäglichen klinischen Anwendung oder für die Nutzung zur Diagnosestellung der IIM sieht. Das definitive Vorliegen einer IIM stellt eine Voraussetzung für die weiterführende Anwendung des neuen Klassifikationssystems dar. Der Einsatz im Kontext einer lediglich suspizierten IIM ist demnach gemäß Mariampillai et al. (6) nicht vorgesehen. (6)

Jene Arbeit liefert als wesentliches Resultat einen Algorithmusbaum, der eine Aufteilung der IIM in vier Subsets empfiehlt (6):

1. Dermatomyositis (DM)
2. Immunmedierte nekrotisierende Myopathie (IMNM)
3. Einschlusskörperchenmyositis (IBM)
4. Antisynthetasesyndrom (ASyS). (6)



**Abbildung 2: Die Weiterentwicklung der IIM-Klassifikation unter der Einbeziehung der MSA/ MAA (erstellt basierend auf den Informationen aus Lundberg et al. und Mariampillai et al. (5,6)).**

Mariampillai et al. (6) stellen folglich die Hypothese auf, dass es sich bei dem in der Vergangenheit definierten Subset der PM in Wahrheit um keine eigenständige Entität, sondern, wie in Abbildung 2 illustriert, vielmehr um einen in der Zukunft abzulösenden Begriff handeln würde (6).

Das entsprechende Klassifikationssystem soll zum Ausdruck bringen, dass eine gezielte Anwendung serologischer Marker wie beispielsweise die Testung auf MSA und MAA eine entscheidende Funktion im Rahmen der Identifikation einer bestimmten IIM-Subgruppe übernehmen kann. Die zunehmende Anwendung eines MSA-Screenings soll gemäß Mariampillai et al. (6) ebenso zu einer Optimierung der diagnostischen Kriterien für die einzelnen Subsets der IIM führen. Additiv soll dadurch die möglicherweise tragende Rolle der MSA/ MAA im diagnostischen Work-up verdeutlicht werden können. (6)

Im Konsens mit Mariampillai et al. (6) betonen Lundberg et al. (4) die Relevanz und Notwendigkeit eines die Serologie berücksichtigenden Klassifikationssystems (4,6). Ein solches ermöglicht konsekutiv potenziell die Entwicklung einer adäquaten Nomenklatur für die Erkrankungsgruppe der IIM und ihrer Untergruppen, die wiederum weitverbreitet anerkannt und auch im klinischen Alltag anwendbar sein soll (4).

## 1.4 Die Entdeckung zweier neuer Autoantikörper mit unbekanntem Substrat: Die Anti-200/100-Proteine

Nach wie vor ist es, wie bereits in Kapitel 1.3 angeführt, von wissenschaftlichem als auch in weiterer Folge von klinischem Interesse, fortlaufend neue biologische Marker für die Erkrankungsgruppe der IIM zu detektieren. Diese sollen den Kliniker oder die Klinikerin im diagnostischen Prozess unterstützen sowie zusätzlich das Erkennen des vorliegenden IIM-Subtyps erleichtern. (17)

Christopher-Stine et al. (19) publizierten in diesem Sinne im Jahr 2010 eine Arbeit, welche die Identifikation eines bis dato unbekanntes MSA ermöglichte. In die entsprechende Studie wurden insgesamt 225 Individuen mit Beschwerden einer Myopathie und entsprechenden Pathologien in der bildgebenden sowie elektromyografischen Diagnostik eingeschlossen. Deren Sera sowie Skelettmuskelbiopsate wurden zur weiteren Analyse und histopathologischen Aufarbeitung genutzt. (19)

Die aus den unterschiedlichsten Muskelgruppen der proximalen Anteile der oberen und unteren Extremität gewonnenen Gewebeproben wurden in weiterer Folge zur standardisierten histopathologischen Diagnostik an das entsprechende Pathologielabor gesandt. Biopsate mit prädominierend nekrotischen Anteilen wurden als Proben mit nekrotisierender Myopathie (NM) bezeichnet. Die Abwesenheit bestimmter histologischer Charakteristika, wie beispielsweise von Entzündungszellinfiltraten perivaskulär oder endomysial sowie einer perifaszikulär betonten Muskelatrophie oder geränderter Vakuolen gestattete den Ausschluss einer PM, DM sowie einer IBM. Die NM wurde somit in dieser Stichprobe als eigenständige Entität definiert. Aussagen über die Ätiopathogenese der NM in dieser Personengruppe konnten dennoch nicht getroffen werden. (19)

Um die Ätiopathogenese näher zu erforschen, erfolgte in einem weiteren Arbeitsschritt die Analyse der obig angeführten Sera mittels Immunpräzipitation (IP) (19).

26 Personen der Stichprobe, deren Biopsiebefunde allesamt mit dem histologischen Phänotyp der zuvor definierten NM in Einklang zu bringen waren, konnten aufgrund eines im Serum ausgebliebenen Nachweises anderer zu diesem Zeitpunkt bekannter MSA keiner bestimmten Erkrankungsgruppe mit autoimmunem Pathomechanismus zugeordnet werden (19).

Als bahnbrechendes Ergebnis der Studie konnte folglich die Entdeckung eines in der IP ausgefallenen Proteinpaars mit einer molekularen Masse von näherungsweise 100 sowie 200 kDa in 16 der vorab beschriebenen 26 Patientensera angeführt werden. Keines der beiden Proteine interagierte nachweislich mit einem Zielautoantigen für die bis zu diesem Zeitpunkt bekannten MSA. Somit wurde initial die Hypothese aufgestellt, dass es sich um eine Neuentdeckung zweier noch unbekannter Autoantikörper handeln müsse. Konsekutiv wurde die diagnostische Spezifität der neu entdeckten Autoantikörper („*Anti-200/100*-Proteine“) näher untersucht. (19)

Keines der 16 Patienten- und Patientinnensera wies gleichzeitig einen weiteren bekannten MSA auf. Folglich wurde ebenso die Hypothese aufgestellt, dass es sich hierbei um ein Patientengut bzw. eine Erkrankungsentität handle, welche von den übrigen bis zu diesem Zeitpunkt bekannten Formen der NM abzugrenzen seien. Christopher-Stine et al. (19) definieren dementsprechend über jene neu entdeckten Autoantikörper ein neues Erkrankungssubset. Ein neuer möglicher Baustein des diagnostischen Prozederes, bezogen auf die Gruppe der IIM, wurde somit mithilfe dieser Neuentdeckung hervorgebracht. (19)

Mehr als die Hälfte (10/16) dieser Patienten und Patientinnen konnte außerdem eine den muskulären Beschwerden vorangegangene Statineinnahme aufweisen. Der Unterschied, bezogen auf die Häufigkeit des Vorkommens einer solchen Medikamenteneinnahme, zwischen Personen, welche scheinbar an dieser Unterform der NM erkrankt waren und Individuen, welche an einer andersartigen Subgruppe einer IIM (DM, PM) erkrankt waren, erwies sich als statistisch signifikant. (19)

#### 1.4.1 HMGCR: Die Identifikation des fehlenden Gegenstückes zu den *Anti-200/100*-Autoantikörpern

Basierend auf den frisch gewonnenen Erkenntnissen aus der durch Christopher-Stine et al. (19) veröffentlichten Studie wurden im Folgejahr durch Mammen et al. (20) Untersuchungsergebnisse publiziert, die darauf abzielten, Aufschluss über das Substrat jener obig angeführten Autoantikörper zu geben (20).

In der in Kapitel 1.4 erläuterten Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen der Einnahme von Statinen sowie der Gegenwärtigkeit von *Anti-200/100*-Autoantikörpern dargestellt wer-

den (19). Das aktuellere Projekt zielte somit zusätzlich darauf ab, den Einfluss einer Statinpharmakotherapie auf die Exprimierung der bis zu diesem Zeitpunkt noch unbekanntem Autoantigene zu untersuchen (20).

Durch Mammen et al. (20) wurde schließlich die Theorie aufgestellt, dass basierend auf jenem vorab angeführten Zusammenhangmodell eine Grundlage geschaffen werden könne, die im Allgemeinen der Erläuterung des Zusammenhangs zwischen der Einnahme eines bestimmten Pharmakons x (Statine) sowie der Ausbildung einer darauffolgenden spezifischen Autoimmunreaktion y („*anti-200/100*-positive IMNM“) dienen würde (20).

Insgesamt 750 Personen wurden dazu in die in diesem Unterkapitel erläuterte Längsschnittstudie eingebunden. Der Einschluss entsprechender Individuen erfolgte basierend auf der klinischen Symptomatik, welche mit jener einer Myopathie in Einklang zu bringen war, laborchemischen Parametern, MRT-Befunden, EMG-Befunden und einer gegebenenfalls vorhandenen histopathologischen Diagnostik. Die Sera sämtlicher Individuen lagen zur weiteren Analyse vor. Ebenso vorhanden waren Kontrollsera von 20 nicht Erkrankten, welche wiederum zu keinem Zeitpunkt einem Statin exponiert waren. (20)

Identifiziert wurde das bis zu diesem Zeitpunkt noch unbekannte Autoantigen über weitere Arbeitsschritte sowie mithilfe der Anwendung der IP. Eine Interaktion zwischen den im Vorjahr entdeckten Autoantikörpern sowie deren entsprechenden Substrat konnte konsekutiv demonstriert werden. Die Identität der Antikörperzielstruktur konnte nun aufgedeckt werden: *3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym A Reduktase* (HMGCR) -ein Enzym dessen Funktion kompakt in Unterkapitel 1.4.2 erläutert wird. In konsekutiven Arbeitsschritten konnte dargestellt werden, dass die nun als „*Anti-HMGCR*“ bezeichneten Autoantikörper sowohl die Präzipitation der HMGCR (Molekulargewicht von näherungsweise 100 kDa) als auch die des Proteins mit der molekularen Masse von 200 kDa gestatteten. (20)

Eine mögliche Erklärung für folgendes Phänomen bietet eine von Parker et al. (21) veröffentlichte Arbeit, welche darstellen konnte, dass obig erwähntes Enzym sowohl in einer monomeren (molekulare Masse von näherungsweise 100 kDa) als auch dimeren Form (molekulare Masse von näherungsweise 200 kDa) präzipitieren kann (21). Mammen et al. (20) veranlasst dies somit dazu, die HMGCR als singuläres Target für den im Vorjahr (2010) detektierten Autoantikörper zu betrachten (20).

Darüber hinaus wurde im Zuge dieses Projektes eine Testmethode entwickelt, welche es Mammen et al. (20) ermöglichte, Patienten- und Patientinnensera in einem kürzeren Zeitraum als unter der Anwendung der IP auf das Vorhandensein des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers zu untersuchen (20).

Unter der Anwendung des neu entwickelten *Enzyme-linked Immunosorbent Assays* (ELISA) wurden folglich 45 der insgesamt 750 Individuen als „*anti-HMGCR*-positiv“ eingestuft. Im Konsens zur vorab durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass überwiegend Individuen, deren Biopsate in der Histologie eine prädominierend nekrotisierende Morphologie zeigten, diesen Autoantikörper aufwiesen. Lediglich 2 der 45 Individuen waren darüber hinaus zusätzlich an einer abweichenden Autoimmunerkrankung erkrankt. Dies wiederum ließ Mammen et al. (20) die Hypothese aufstellen, dass in seltenen Fällen jener Autoantikörper ebenso bei Personen mit einer OM präsent sein könne. (20)

Mammen et al. (20) stellten außerdem die Hypothese auf, dass neben der auf das Individuum einwirkenden Umwelt ebenso die interindividuelle genetische Prädisposition eine Rolle in der Entwicklung dieser Statin-assoziierten-*anti-HMGCR*-positiven NM spielen müsse, da die Mehrzahl an Personen unter einer Statintherapie keine derartige Erkrankung entwickeln würde (20).

Weiters konnte eine erhöhte Expression der HMGCR in sich regenerierendem Muskelgewebe aufgezeigt werden, welches wiederum eine Expressierung des Zellregenerationsmarkers *Neurales Zelladhäsionsmolekül* (NCAM) aufweist. Dies stützt die durch Mammen et al. (20) aufgestellte Theorie, dass das Fortbestehen der Beschwerdesymptomatik auch nach der Terminisierung einer Statintherapie möglich ist, sofern tatsächlich ein Autoimmunprozess und nicht etwa das Pharmakon an sich für die Destruktion des Muskelgewebes verantwortlich zu machen ist. (20)

#### 1.4.2 Die Rolle der Statine in Bezug auf die HMGCR

Nach den durch Christopher-Stine et al. (19) sowie Mammen et al. (20) aufgestellten Theorien, dass Patienten und Patientinnen, welche *Anti-HMGCR*-Autoantikörper und in der Histologie das Bild einer NM aufweisen, scheinbar häufig an einer spezifischen Untergruppe der IMNM erkrankt seien („Statin-assoziierte IMNM“), wird an dieser Stelle der Zusammenhang zwischen Statinen und der HMGCR kompakt erläutert (19,20):

Für die Synthese des Cholesterins übernimmt primär die HMGCR eine bedeutende Rolle. Im Zytosol entsteht das *beta-Hydroxy-beta-Methylglutaryl-Coenzym A* (beta-HMG-CoA). Beta-HMG-CoA wird weiters zu Mevalonat reduziert, wobei hier die HMGCR als katalysierendes Enzym ihre bedeutsame Funktion einnimmt. (22)

Die HMGCR bietet an jener Stelle einen pharmakologischen Angriffspunkt für das in den Fettstoffwechsel eingreifende Pharmakon. Statine fungieren als Inhibitoren der HMGCR und hemmen folglich die Synthese des Cholesterins. (22)

### 1.4.3 Die Immunmedierte nekrotisierende Myopathie (IMNM)

Das Anführen der IMNM als eigenständiges Subset der IIM erfolgte, damals ausschließlich basierend auf klinisch-histologischen Merkmalen, erstmalig in dem in Kapitel 1.2.1 angeführten, durch Amato (14) empfohlenen, Klassifikationssystem (14). Sie stellt in der Gruppe der IIM eines der am stärksten die Skelettmuskulatur affizierenden Subsets dar (23).

Der existenten Literatur ist jedoch zu entnehmen, dass ein erheblicher Anteil der an IMNM Erkrankten eine Assoziation zu einem MSA aufweist (23). Demnach kann eine Einteilung der IMNM in drei Untergruppen erfolgen (23):

1. *anti-HMGCR*-Antikörper-positive Form
2. *anti-zytoplasmatisches-Signalerkennungspartikel* (SRP)-Antikörper-positive Form
3. seronegative Form (etwa 20 % der Betroffenen). (23)

Der Literatur zufolge können allerdings lediglich rund 10 % der an IIM Erkrankten einem der beiden zuerst angeführten Erkrankungssubsets zugeordnet werden. Weibliche Individuen sind dabei insgesamt häufiger von diesen Subsets betroffen. (24)

Folgend soll, aufgrund des in der Diplomarbeit berücksichtigten Autoantikörpers, primär auf die *anti-HMGCR*-Antikörper-positive Unterform der IMNM eingegangen werden.

#### 1.4.3.1 Risikofaktoren

Entsprechend dem Pathomechanismus anderweitiger Autoimmunerkrankungen betonen Allenbach et al. (23) sowie Miller et al. (25) die möglicherweise bedeutende Rolle genetischer als auch umweltassoziierter Risikofaktoren für die Entstehung der *anti-HMGCR*-Antikörper-positiven Erkrankungsform (23,25). Dementsprechend sei die Suszeptibilität eines adulten Individuums, bei erfolgtem Nachweis des Allels für das MHC-Klasse-II Molekül DRB1\*11:01 gegenüber der *anti-HMGCR*-Autoantikörper-positiven Unterform erhöht, was wiederum die Rolle des entsprechenden Moleküls als potenziellen genetischen Risikofaktor für die Entstehung dieses Erkrankungssubsets verdeutlicht (26). Um zu dieser Konklusion zu kommen, schlossen Mammen et al. (26) in Summe 28 *anti-HMGCR*-positive Personen kaukasischer als auch dunkelhäutiger Ethnie, 654 Kontrollen sowie 51 Personen, welche ihrerseits eine milde Form der Statintoleranz aufwiesen, in ihre Studie mit ein (26).

Eine verstärkte muskuläre Expression der HMGCR kann als Folge einer Statineinnahme auftreten (4). Der Literatur ist dementsprechend die Hypothese zu entnehmen, dass eine statintriggerter Überexpression des Enzyms möglicherweise die Toleranz eines, wie obig angeführt, genetisch prädisponierten Individuums für das Pharmakon herabsetzt (4). Als wesentlicher umweltassoziierter Risikofaktor für die Entstehung der *Anti-HMGCR*-Myopathie kann somit, wie in den Kapiteln 1.4 und 1.4.1 dargestellt, eine Statinpharmakotherapie angeführt werden (4,19,20).

#### 1.4.3.2 Klinik & Symptomatik

In der bestehenden Literatur wird, wie bereits in Kapitel 1.1 angeführt, das Erkrankungssubset der *anti-HMGCR*-positiven IMNM als ein primär die Skelettmuskulatur affizierendes Subset beschrieben. Anderweitige Organmanifestationen konnten bis dato nicht angeführt werden. (4)

Bei einem Großteil der Betroffenen liegt der Erkrankungsbeginn einer *Anti-HMGCR*-Myopathie im Erwachsenenalter (etwa um das 55. Lebensjahr) (24,27). Charakteristisch sind ein subakuter Erkrankungsbeginn sowie die im Verlauf fortschreitende, ausgeprägte, symmetrische, proximal betonte Muskelschwäche (4,27). Stärker betroffen sind vor allem die proximalen Muskelgruppen der unteren Extremität (23). In einer von Werner et al. (28) veröffentlichten Studie konnte außerdem durch die Einbeziehung von *anti-HMGCR*-positiven Personen, ein Zusammenhang zwischen der Höhe des initialen *Anti-HMGCR*-Autoantikörpertiters

und der Höhe der CK-Spiegel als auch dem Ausmaß der Muskelschwäche der unteren und oberen Extremitäten dargestellt werden (28).

Die exorbitant hohen Serumkonzentrationen der CK, welche oftmals im Bereich zwischen 1.000 und 20.000 IU/L ( $\cong$  bis zu  $> 100$ -mal der ULN) liegen, stellen ebenso ein wesentliches Charakteristikum dieser Erkrankungsunterform dar (27). Allenbach et al. (29) zeigten in ihrer im Jahr 2018 publizierten Arbeit bei an IMNM Erkrankten eine zwischen den CK-Spiegeln und dem Ausmaß der Muskelfasernekrosen statistisch signifikante Korrelation auf (29). Dies wiederum veranlasste Allenbach et al. (29) dazu, die Höhe der Serumkonzentration der CK als optimalen für das Ausmaß der Muskelfasernekrosen repräsentativen, biologischen Krankheitsaktivitätsmarker für die *anti-HMGCR*-positive Unterform der IMNM zu definieren (29).

Additiv werden in der Literatur bei bis zu 60 % der Betroffenen Myalgien sowie Müdigkeit als Teil des individuellen Symptomenkonglomerats angeführt (27). Die Wiedererlangung der vollen Muskelkraft kann in einer Vielzahl der Fälle aufgrund der teilweise irreversiblen Muskelschädigung, welches die Schwere des Erkrankungsbildes widerspiegelt, nicht erreicht werden (23).

Eine noch ausgeprägtere muskuläre Beschwerdesymptomatik betrifft der Literatur zufolge Individuen, welche *Anti-SRP*-Autoantikörper aufweisen (24). Weiters zeigten Love et al. (30) in ihrer im Jahr 1991 publizierten Arbeit eine potenzielle Assoziation zwischen einer *Anti-SRP*-Autoantikörperpositivität sowie einer myokardialen Affektion auf (30). Entsprechende Assoziation konnte in weiterführenden Studien, wie beispielsweise in der von Lilleker et al. (31) veröffentlichten Arbeit, jedoch nicht belegt werden (31). Die seronegative Unterform der IMNM stellt ein bis dato in der Literatur unzureichend charakterisiertes Subset dar (4). Allenbach et al. (32) konnten jedoch in einer insgesamt 115 Individuen (14/115 seronegativ) einschließenden Studie ein, im Vergleich zu *anti-SRP*-positiven Patienten und Patientinnen, statistisch signifikant erhöhtes standardisiertes Inzidenzverhältnis für das Auftreten von Neoplasien bei seronegativen an IMNM Erkrankten demonstrieren (32).

#### 1.4.3.3 Histologie & Immunhistochemie

Histologische Charakteristika der IMNM stellen die prädominierend vorliegenden Nekrosen der Muskelfasern sowie das histopathologisch nicht oder nur in einem äußerst geringen Ausmaß detektierbare lymphozytäre Entzündungszellinfiltrat dar (24). Parallel dazu können sich regenerierende Muskelfasern nachgewiesen werden (24). Makrophagen, welche die nekrotischen Fasern umgeben oder infiltrieren, stellen das vorherrschende Zellbild der *Anti-HMGCR*-Myopathie dar (33). In einer von Chung et al. (33) publizierten Studie hingegen erfolgte die Beschreibung von endomysial lokalisierten CD8+- als auch CD4+-T-Lymphozyten bei der Hälfte der *anti-HMGCR*-positiven Individuen (9/18) (33). Die Mehrheit der 18 Biopsate (87.5 %) wies zudem eine verstärkte Expression des Haupthistokompatibilitätskomplex-(MHC)-Antigens der Klasse I auf (33). Sarkolemmal (nicht-nekrotische Fasern) sowie kapillär (endomysial) lokalisierte Membranangriffskomplex-(MAC)-Ablagerungen konnten ebenso bei einem Großteil der *anti-HMGCR*-positiven Individuen (85.7 % respektive 44 %) detektiert werden (33). Letzteres kann ebenso auf eine potenziell pathogenetische Rolle des Komplementsystems für die Entstehung dieses Erkrankungssubsets hindeuten (33).

## 1.5 Die Detektion eines weiteren unbekanntem Autoantikörpers: Der Anti-43-kDa-Autoantikörper

Analog zu der von Christopher-Stine et al. (19) veröffentlichten Arbeit setzten sich Salajegheh et al. (34) das Ziel, ebenso einen neuen, jedoch für die IBM hoch spezifischen, Autoantikörper zu detektieren (19,34). Die Resultate einer zuvor gleichermaßen von Salajegheh et al. (35) publizierten Studie, welche sich mit der Detektion von Plasmazellen als Reifungsprodukt der B-Lymphozyten sowie dem Nachweis der B-Lymphozyten selbst in Muskelproben von an IBM Erkrankten befasste, gaben Anlass zur Suche (35).

Zur Durchführung der Immunoblots standen Salajegheh et al. (34) in Summe 65 Plasmaproben zur Verfügung. Eingeschlossen wurden 25 an IBM Erkrankte, 25 Individuen mit anderweitiger autoimmunbedingter Muskelerkrankung (PM, DM, Myasthenia gravis) sowie 15 gesunde Kontrollen (34).

Personen wurden der Gruppe der IBM zugeteilt, sofern sie die entsprechenden Klassifikationskriterien des durch Amato (14) empfohlenen Klassifikationssystems, welches in Kapitel 1.2.1 angeführt wird, erfüllten (14,34).

Obgleich der IBM seit dem Jahr 1984 durch Engel et al. (36) eine rein T-Zell-vermittelte Zytotoxizität und eine darauf basierende Destruktion des Skelettmuskelgewebes nachgesagt wird, konnten hingegen in weiterführenden Studien die Rolle der B-Lymphozyten (37,38) sowie die Rolle der Plasmazellen (39) als Teil der humoralen Immunantwort in der Pathogenese der IBM eruiert werden (36–39).

Die Durchführung der Western-Blots erfolgte auf menschlichem Muskellysat als Antigenquelle, wobei die in den Plasmaproben enthaltenen Autoantikörper als primäre Antikörper fungierten. Dies gestattete es Salajegheh et al. (34) erstmalig im Probenmaterial von an IBM Erkrankten einen Autoantikörper zu detektieren, welcher sich gegen ein muskuläres Target richtet. (34)

Das Resultat der Arbeit lautet wie folgt: In mehr als der Hälfte der Plasmaproben der an IBM Erkrankten (13/25) konnte ein Autoantikörper detektiert werden, der eine molekulare Masse von näherungsweise 43 kDa aufwies. In dem Probenmaterial der übrigen Individuen (gesunde Kontrollen, DM-, PM-, Myasthenia gravis-Patienten und -Patientinnen) konnte kein solcher Antikörper nachgewiesen werden. Dies demonstriert laut Salajegheh et al. (34) die exorbitant hohe Spezifität dieses Autoantikörpers (100 %) für die Erkrankungsgruppe der

IBM in dieser Stichprobe. Konklusiv ließ jenes Resultat Salajegheh et al. (34) zudem die Hypothese aufstellen, dass die humorale Immunantwort eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der IBM einnimmt. (34)

### 1.5.1 cN1A: Die Identifikation des fehlenden Gegenstückes zum Anti-43-kDa-Autoantikörper

Basierend auf den in Kapitel 1.5 dargestellten Forschungsergebnissen wurde durch Larman et al. (40) eine Arbeit publiziert, welche erstmalig die Aufdeckung der Identität des zum in Kapitel 1.5 angeführten Autoantikörper passenden Zielautoantigens mit einem Molekulargewicht von rund 43 kDa ermöglichte. Im Zuge dieses Projektes wurde zudem eine *Anti-cN1A*-Autoantikörpernachweismethode im Sinne eines quantitativen Dot-Blot-Assays entwickelt. (40)

Zur Identifikation des zu diesem Zeitpunkt noch unbekanntes Autoantigens wurden in Summe 200 Blutproben zur Analyse herangezogen (40). 47 der 200 Individuen erfüllten die Klassifikationskriterien des durch Amato (14) empfohlenen Klassifikationssystems für das Vorliegen einer IBM (14,40). Skelettmuskelgewebe von insgesamt 30 Personen, worunter sich 15 an IBM Erkrankte befanden, wurde zur Herstellung von humanen Muskellysaten sowie zur Durchführung der Immunhistochemie entnommen (40).

In zwei aufeinanderfolgenden Arbeitsschritten, welche die Methodik der Massenspektrometrie sowie Methoden der Molekulargenetik umfassten, konnte somit die *zytosolische 5'-Nukleotidase 1A* (cN1A) als naheliegende Zielstruktur des in Kapitel 1.5 angeführten Autoantikörpers identifiziert werden (40). Gemäß Hunsucker et al. (41) ist die Expression jenes Proteins überwiegend in Skelettmuskelgewebe gegeben (41). Dementsprechend konnte die Theorie untermauert werden, dass es sich bei der cN1A tatsächlich um das gesuchte Autoantigen der Untergruppe der IBM handeln würde (40). In darauffolgend angefertigten Western-Blots konnte dies bestätigt werden (40).

Der in diesem Projekt entwickelte *Anti-cN1A*-Dot-Blot-Assay zeichnet sich gemäß Larman et al. (40) durch seine hohe diagnostische Spezifität (92 %) sowie seine beachtliche diagnostische Genauigkeit (85 %) (bei *Anti-cN1A*-Autoantikörperwerten von > 2.5 IU) für die Diagnosestellung einer IBM aus. Folglich stellt diese Methode der Antikörpertestung entsprechend Larman et al. (40) einen neuen möglichen Baustein im diagnostischen Work-up der IBM dar. Die Diagnosestellung einer IBM könne hiermit zudem zu einem früheren Zeitpunkt

ermöglicht werden. Des Weiteren erfordert diese Nachweismethode lediglich eine Blutentnahme und weist somit eine geringe Invasivität auf. Larman et al. (40) sehen somit in dieser Testmethode das Potenzial, eine Reduktion der Anzahl erforderlicher Muskelbiopsien im Rahmen der IBM-Diagnostik erzielen zu können. Diese Antikörper detektierende Testmethode soll zudem maßgeblich dabei helfen, die IBM von anderen Subgruppen der IIM, wie beispielsweise der PM, zu unterscheiden. (40)

Simultan dazu publizierten Pluk et al. (42) die Resultate ihrer Studie, wobei das muskelspezifische Polypeptid M, 44.000 (MUP44) als Zielstruktur des in Kapitel 1.5 angeführten Autoantikörpers identifiziert wurde (42). Patienten- und Patientinnensera von an IBM Erkrankten wurden hierzu in Kombination mit Muskelzellextrakten gesunder Individuen, welche als Quelle muskulärer Autoantigene fungierten, auf das Vorliegen von Autoantikörpern mittels Immunoblotting analysiert (42). Im Einklang mit den Ergebnissen der von Larman et al. (40) veröffentlichten Arbeit handelt es sich gemäß Pluk et al. (42) bei jenem Polypeptid ebenso um die obig angeführte cN1A (40,42). Bestätigt wurde dies in der entsprechenden Studie mithilfe der Durchführung der Immunoaffinitätschromatographie zur Isolierung des Polypeptids aus den vorab angeführten Muskelzellextrakten sowie der anschließend durchgeführten Massenspektrometrie (42). Eine hohe Konzentration des hier als *Anti-MUP44* bezeichneten Autoantikörpers konnte konsekutiv, durch die Präzipitation rekombinanter cN1A in der IP, in etwa 33 % der Sera von an IBM Erkrankten nachgewiesen werden (42). PM- sowie DM-Patienten- und Patientinnensera hingegen wiesen, im Zuge der Durchführung der IP, jenen Autoantikörper deutlich seltener (4.5 % respektive 4.2 %) sowie in einer deutlich geringeren Konzentration auf (42). Demnach sei auch gemäß Pluk et al. (42) im Konsens mit Salajegheh et al. (34) der entsprechende Autoantikörper höchst spezifisch für die IBM (34,42).

### 1.5.2 Die Einschlusskörperchenmyositis (IBM)

Individuen, welche jenseits des 50. Lebensjahres an einer erworbenen Form der Myopathie erkranken, sind zumeist von einer IBM betroffen (43). Obgleich die IBM, wie beispielsweise in den Kapiteln 1.2 sowie 1.3.1 dargestellt, mehrfach in Klassifikationssystemen als Subset der IIM definiert wird, weisen Muskelbiopsate der an IBM Erkrankten sowohl inflammatorische als auch degenerative histopathologische Merkmale auf (5,6,43).

Diagnostische Kriterien für die IBM wurden durch Griggs et al. (44) bereits im Jahr 1995 empfohlen (44). Diese stützten sich jedoch primär auf histopathologische Charakteristika der Erkrankung, während klinisch erhobene Merkmale nur eingeschränkt berücksichtigt wurden (44). Rose et al. (45) empfahlen dementsprechend zur Nutzung im Bereich der Forschung die Anwendung der aktualisierten, überarbeiteten Version entsprechender Diagnostikkriterien, welche ihrerseits im Rahmen des im Jahr 2011 abgehaltenen 188. Internationalen Workshops der ENMC festgelegt wurden (45). Letztere legten Fokus primär auf klinische, laborchemische und anamnestisch erhobene Merkmale, wie das Alter des Individuums bei Erkrankungsbeginn, die Erkrankungsdauer, die Serumkonzentration der CK sowie das Verteilungsmuster der Muskelschwäche (45). Additiv wurden histopathologisch identifizierbare Erkrankungsmerkmale ebenso berücksichtigt (45). Folglich gestattet dies eine Einteilung der IBM in drei diagnostische Untergruppen (45):

1. wahrscheinlich vorliegende IBM
2. klinisch definierte IBM
3. klinisch-pathologisch definierte IBM. (45)

Die publizierten Resultate zahlreicher in den Kapiteln 1.5 sowie 1.5.1 angeführter Studien, welche die Häufigkeit der Präsenz der gegen die muskulär exprimierte cN1A gerichteten Autoantikörper bei an IBM Erkrankten und das zahlreiche Vorliegen von Antikörper-sezierenden Plasmazellen in IBM-Muskelbiopsaten aufzeigen, untermauern jedoch die Annahme, dass es sich auch bei dem Subset der IBM tatsächlich um eine Autoimmunerkrankung handelt (39,40,42).

Dementsprechend kann der existenten Literatur zufolge bei einem Anteil von etwa 30–50 % der an IBM Erkrankten, der in der vorliegenden Arbeit berücksichtigte *Anti-cN1A*-Autoantikörper nachgewiesen werden (18,40,42).

Die Resultate einer von Herbert et al. (46) veröffentlichten Arbeit zeigten, dass *Anti-cN1A*-Autoantikörper ebenso im Rahmen anderweitiger Autoimmunerkrankungen, insbesondere im Rahmen des Systemischen Lupus erythematoses (SLE) (20 % von 44) sowie im Rahmen des Sjögren-Syndroms (SjS) (36 % von 22), im Serum der betroffenen Individuen nachgewiesen werden können (46). Mithilfe des zu diesem Zeitpunkt neu entwickelten cN1A-Peptid-ELISA wurden hierzu Sera von 44 an einem SLE sowie 22 an einem SjS Erkrankten auf das Vorliegen des entsprechenden Autoantikörpers untersucht (46). Folglich werden *Anti-*

*cNIA*-Autoantikörper in der existenten Literatur fallweise der Gruppe der MAA und nicht etwa der Gruppe der MSA zugeordnet (4).

Männliche Individuen sind insgesamt häufiger von diesem Erkrankungssubset betroffen, was in einer exemplarisch angeführten von Benveniste et al. (47) publizierten Langzeitstudie ebenso demonstriert werden konnte (47). Dies stellt wiederum ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal zu den übrigen IIM-Unterformen dar (18). Der Erkrankungsbeginn liegt bei dem Subset der IBM zumeist jenseits des 50. Lebensjahres (4).

#### 1.5.2.1 Risikofaktoren

Wie bereits in Kapitel 1.4.3.1 erläutert, können der Literatur, auch bezüglich der Untergruppe der IBM, potenzielle genetische als auch umweltassoziierte Risikofaktoren für die Entstehung der Erkrankung entnommen werden (4). Demzufolge sei gemäß Rothwell et al. (48) die Suszeptibilität eines Individuums vor allem bei erfolgtem Nachweis des Allels für das MHC-Klasse-II-Molekül DRB1\*03:01 gegenüber der IBM erhöht, was wiederum die möglicherweise bedeutende Rolle des Moleküls als genetischer Risikofaktor für die Entstehung dieses Erkrankungssubsets verdeutlicht (48). Additiv konnte im Zuge jener Studie, welche jedoch ausschließlich Individuen kaukasischer Ethnie einschloss, die Hypothese aufgestellt werden, dass außerdem sowohl das *CC-Motiv-Chemokinrezeptor-5*-(CCR5)-Gen, welches auf dem Genlocus 3p21.31 des Chromosoms 3 (non-HLA-Lokus) lokalisiert ist und folglich auch dessen gleichnamiger Chemokinrezeptor eine möglicherweise tragende pathogenetische Rolle für das Subset der IBM einnehmen (48).

Als potenzielle umweltassoziierte Risikofaktoren für die Entstehung einer IIM können der Literatur zufolge diverse infektiöse Agenzien, wie beispielsweise Viren, aufgezeigt werden (4). Exemplarisch hierfür kann eine von Dalakas et al. (49) publizierte Arbeit angeführt werden, welche demonstrieren soll, dass eine Infektion genetisch prädisponierter Individuen mit dem *Humanen Immundefizienzvirus* (HIV) möglicherweise die Entstehung einer IBM triggert (49). Matsuura et al. (50) wiederum konnten in ihrer in Japan durchgeführten, insgesamt 31 IBM-Patienten und -Patientinnen umfassenden, Studie eine möglicherweise signifikante Assoziation zwischen einer Infektion mit dem *Humanen T-lymphotropen Virus 1* (HTLV1) sowie dem Vorliegen einer IBM aufzeigen (50). 21 Patienten- und Patientinnensera wurden dabei auf das Vorliegen antiviraler Antikörper getestet, wobei 11 an IBM Erkrankte solche aufwiesen (50).

### 1.5.2.2 Klinik & Symptomatik

Wie bereits in Kapitel 1.1 erwähnt, sind die IIM klassischerweise durch das zumeist symmetrische Verteilungsmuster der Schwäche der proximalen Muskelgruppen (Becken- und Schultergürtelmuskulatur) gekennzeichnet (3,4). Zusätzlich können die Schwäche der Nackenbeuger als auch in selteneren Fällen die Schwäche der Nackenstrecker als potenzielle Symptome angeführt werden (4).

Die IBM wiederum differenziert sich in vielerlei Hinsicht, so auch klinisch, von den übrigen Formen der IIM (18). Charakteristisch für die IBM sind vor allem das oftmals asymmetrische Verteilungsmuster der im Krankheitsverlauf progressiven Muskelschwäche sowie die davon betroffenen Muskelgruppen (43). Affiziert sind hierbei zumeist auch distale Muskeln, wie beispielsweise die Muskulatur des Kniestreckapparates (Quadrizeps) sowie die tiefen Fingerbeuger (43). Naddaf et al. (43) betonen dementsprechend die Relevanz des Inbetrachtziehens einer möglichen IBM, sofern die Schwäche des Quadrizeps die der proximalen Hüftbeugemuskulatur sowie die Schwäche der Fingerbeuger jene der Fingerstrecker übersteigt (43). Additiv können der Befall sowie die konsekutive Atrophie der Ellenbogenbeuger und -strecker, der Handgelenksbeuger und -strecker als auch der Muskeln der Extensorenloge im Bereich des Unterschenkels zur Klinik dieses Subsets beitragen (4,43).

Als weiteres wesentliches Unterscheidungsmerkmal kann die in der Literatur beschriebene, fallweise normwertige Serumkonzentration der CK angeführt werden (4).

Obgleich die IBM, wie in Kapitel 1.1 erläutert, in der Literatur als überwiegend muskelaffizierende Entität beschrieben wird, weisen dennoch mehr als die Hälfte der IBM-Patienten und -Patientinnen eine vermeintlich extramuskuläre Krankheitskomplikation im Sinne einer Dysphagie auf. Ursächlich hierfür seien jedoch möglicherweise die Affektion der quergestreiften Muskulatur des proximalen Ösophagusdrittels sowie der Befall der Pharynxmuskulatur. Demnach sei es gemäß Lundberg et al. (4) umstritten, ob es sich bei der Dysphagie tatsächlich um eine extramuskuläre und nicht etwa doch um eine muskuläre Manifestation der Erkrankung handelt. Die im Rahmen der IBM fallweise präsente Dysphagie, welche gegebenenfalls in einer Aspirationspneumonie resultiert und folglich eine potenziell lebensbedrohliche Erkrankungskomplikation darstellt, spiegelt somit die Ernsthaftigkeit des Erkrankungssubsets wider. (4)

Als weitere wesentliche Charakteristika der IBM können der Literatur zufolge darüber hinaus das über Jahrzehnte hinweg langsame Fortschreiten der Erkrankung sowie das für gewöhnlich fehlende Ansprechen auf eine immunsuppressive Pharmakotherapie genannt werden (4).

Aufgrund der Ergebnisse einer von Lilleker et al. (51) publizierten 311 Individuen umfassenden, retrospektiven Studie konnte außerdem demonstriert werden, dass an IBM erkrankte Individuen, welche *Anti-cN1A*-Autoantikörper besitzen, ein im Vergleich zu seronegativen Erkrankten erhöhtes adjustiertes Sterblichkeitsrisiko aufweisen. Zusätzlich zeigten entsprechende Individuen zum Zeitpunkt des Erkrankungsbeginnes seltener eine Affektion der proximalen Muskeln der oberen Extremität. Dementsprechend empfehlen Lilleker et al. (51) die Etablierung einer *anti-cN1A*-Autoantikörper-basierten Unterteilung der IBM in einzelne Subgruppen. (51)

Im Unterschied zu adulten Individuen, welche von einem anderweitigen Subset der IIM betroffen sind, besitzen an IBM Erkrankte im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung kein erhöhtes Risiko für das Entstehen von Neoplasien (4).

#### 1.5.2.3 Histologie & Immunhistochemie

Ein wesentliches histologisches Charakteristikum der IBM stellt das überwiegend endomyzial lokalisierte Entzündungszellinfiltrat dar, welches sich zum größten Teil aus CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten zusammensetzt (8,43). Entsprechende Zellen umgeben dabei nicht-nekrotische Muskelfasern (43). Fokal kann zudem häufig eine Invasion der Fasern, welche ihrerseits das MHC-Antigen der Klasse I exprimieren, durch jene CD8<sup>+</sup>-zytotoxischen-T-Lymphozyten detektiert werden (8,10,43). Zuvor Angeführtes stellt die inflammatorische histopathologische Komponente der IBM dar (8).

Pathognomonisch für die IBM sind außerdem sogenannte geränderte Vakuolen, welche auch als autophagische Vakuolen bezeichnet werden (10,43). Die entsprechende Namensgebung basiert auf der Auskleidung des Vakuoleninnenraumes mit membranösem zytoplasmatischem Material (8,43). Additiv kann eine Atrophie der Muskelfasern identifiziert werden, welche ihrerseits dezent neurogen imponiert (10,43). Weiters können sogenannte Ragged-Red Muskelfasern sowie Cytochrom-c-Oxidase (COX) negative Muskelfasern detektiert werden, die ihrerseits repräsentativ für Mitochondrienanomalien sind (8).

Proteinaggregate innerhalb der Muskelfasern können der Literatur zufolge ebenso als wesentliches Charakteristikum der Erkrankung angeführt werden (4). Die entsprechenden Einschlusskörperchen können dabei, beispielsweise mittels Kongorotfärbung, oftmals als kongophile beta-Amyloidablagerungen identifiziert werden (8,43). Dubourg et al. (52) beispielsweise empfehlen außerdem den immunhistochemischen Nachweis von p62- und *Transactive response DNA binding protein-43* (TDP-43)-Aggregaten als zusätzliches diagnostisches Kriterium für die IBM heranzuziehen (52). Entsprechende Proteine stellen Marker für neurodegenerative Erkrankungen dar (53). Dubourg et al. (52) schlagen dies jedoch aufgrund der im Zuge ihrer Studie demonstrierten erheblichen Sensitivität beider Marker für die Diagnosestellung der IBM vor (52). Hiniker et al. (54) hingegen konnten mithilfe ihrer publizierten Studie vor allem die erhebliche Spezifität des Nachweises einer TDP-43-Proteinaggregation für das Vorliegen einer IBM demonstrieren (54). Zusätzlich kann im Rahmen dieses IIM-Subsets eine Deposition von tubulofilamentösen Inklusionen vorhanden sein (10). Vor dem Hintergrund der vorab in diesem Absatz angeführten Charakteristika, soll die potenziell beträchtliche degenerative Komponente der IBM verdeutlicht werden (4). Der existenten Literatur ist bis dato jedoch nicht eindeutig zu entnehmen, ob jene Proteinaggregate tatsächlich ursächlich für die Muskelfaserdegeneration sind (4). Naddaf et al. (43) stellen exemplarisch angeführt demnach die Theorie auf, dass es sich bei der IBM sowohl um eine immunmedierte Erkrankung, welche konsekutiv degenerative Veränderungen früh im Erkrankungsverlauf auslöst als auch um eine primär degenerative Erkrankungsentität mit darauffolgend eintretenden entzündlichen Veränderungen handeln könne (43).

## 1.6 Ausgewählte MSA-Detektionsmethoden

Wie in Kapitel 1.3 dargestellt wird dem Screening auf Autoantikörper zunehmend eine essenzielle Rolle im Diagnostikprozess der IIM verliehen (55). Nachfolgend wird bündig auf die Detektions- bzw. Screeningmethode des kommerziell verfügbaren LIA sowie auf die Goldstandardmethode zur Autoantikörperdetektion (IP) eingegangen.

Die Methode der indirekten Immunfluoreszenz (IIF) beispielsweise, welche sich durch ihre Häufigkeit in der Anwendung für Autoantikörpernachweise auszeichnet, dient primär der Detektion von sogenannten Antinukleären Antikörpern (ANA), welche durch den Einsatz von Humanen-Typ-2-Epithelzellen (HEp2-Zellen) als Substrat erfolgt (1,18).

Obgleich die Präsenz eines überwiegenden Anteiles der MSA in einem positiven ANA-Testergebnis resultiert und dementsprechend durch ein charakteristisches nukleäres Fluoreszenzmuster gekennzeichnet ist, interagieren gewisse MSA, wie beispielsweise der *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Autoantikörper jedoch mit ihren zytoplasmatisch und nicht etwa nukleär lokalisierten Autoantigenen (4,18). Dies wiederum resultiert in diesem Kontext in einer geringen Spezifität des entsprechenden Fluoreszenzmusters für den zu detektierenden MSA, was die Utilität der ANA-IIF als Screeningmethode für die Gruppe der MSA insgesamt herabsetzt (18).

Dieser Sachverhalt konnte beispielsweise in einer durch Aggarwal et al. (56) publizierten Arbeit unterstrichen werden: Die Tatsache berücksichtigend, dass ein negatives ANA-Testresultat Kliniker und Klinikerinnen potenziell dazu veranlasst, von einem autoimmunen Pathomechanismus der vorliegenden Pathologie abzusehen, wurden Individuen, welche die Präsenz eines Antisynthetaseautoantikörpers aufwiesen (nachgewiesen mittels IP), auf das Vorliegen von klassischen ANA als auch auf das Vorliegen von antizytoplasmatischen Autoantikörpern nun mithilfe der IIF getestet. Als wesentliches Resultat der Studie konnten eine geringe Spezifität (6 %) sowie eine lediglich moderate Sensitivität (50 %) des ANA-Testergebnisses (nukleär positiver ANA-Befund) für eine vorliegende Antisynthetaseautoantikörperpositivität angeführt werden. Im Kontrast dazu zeichneten sich die in der IIF ermittelten antizytoplasmatischen Autoantikörper (zytoplasmatisch positiver Hep2-Zell-Befund) durch ihre beachtlich hohe Spezifität (89 %) und Sensitivität (72 %) für das Vorliegen eines Antisynthetaseautoantikörpers aus. (56)

## 1.6.1 Die Goldstandardmethode (IP)

Die den Goldstandard formierende Detektionsmethode zum Nachweis der MSA und MAA ist somit bis dato die Methode der IP (57).

### 1.6.1.1 Antigenpräzipitation mittels IP

Unter der IP wird primär prinzipiell, vor dem Hintergrund der Nutzung antigenspezifischer Antikörper, welche ihrerseits zumeist auf einer stationären festen Phase, wie beispielsweise Magnetpartikeln oder Agaroseharzkügelchen, fixiert vorliegen, die Affinitätspurifikation von Antigenen verstanden (58). Jene Antigene werden dabei zuvor für gewöhnlich radioaktiv markiert (59). In diesem Sinne stellt die Methode der IP, wie exemplarisch in Kapitel 1.4.1 angeführt, eine der weitverbreitetsten Techniken zur Ausfällung unterschiedlichster, beispielsweise in Zelllysaten vorhandener, Antigene dar (58). Hierzu werden geringe Mengen jener mit Antikörpern versehenen Kügelchen oder Magnetpartikel beispielsweise mit Zelllysaten (Antigenquelle) in Zentrifugenröhrchen inkubiert. Jener Inkubationsprozess gestattet wiederum die Ausbildung einer Verbindung zwischen einem fixierten Antikörper und einem im Zelllysate vorhandenen Antigen (Immunkomplex) (58). Durch eine anschließende Zentrifugation oder durch die Nutzung eines Magneten wandert jene Verbindung zum Röhrchenboden (58). Mittels Pipette wird anschließend der Flüssigkeitsrückstand entfernt (58). Eine weitere Charakterisierung und Quantifizierung dieser typischerweise radioaktiv markierten Proteine kann konsekutiv, nach erfolgter Aufspaltung dieses Komplexes, beispielsweise mittels Autoradiografie erfolgen (59). Als wesentlicher Vorteil der IP kann wiederum ihre exorbitant hohe Sensitivität, bezogen auf den Nachweis auch geringer Mengen eines spezifischen Antigens, sofern dieses radioaktiv markiert vorliegt, angeführt werden (59).

### 1.6.1.2 Antikörperdetektion mittels IP bzw. Western-Blot-Verfahren

Umgekehrt wiederum ermöglicht die Methode der IP ebenso, wie exemplarisch in Kapitel 1.4 dargestellt, dem Anwender oder der Anwenderin, neben der zuvor beschriebenen Präzipitation von Antigenen, eine gegen ein bereits bekanntes Antigen gerichtete spezifische Antikörperantwort zu charakterisieren (59). Zur Detektion bzw. Präzipitation antigenspezifischer Antikörper werden die vorab markierten Antigene mit dem zu untersuchenden Probenmaterial inkubiert (60). Der obig erwähnte, im Zuge der IP gebildete, aus einem Antigen und einem Antikörper zusammengesetzte Immunkomplex wird schlussendlich, wie in Kapitel 1.6.1.1 erläutert, aufgespalten (59). Konsekutiv werden Proteine, wie beispielsweise

Antikörper, deren Detektion bzw. weitere Analyse von Interesse ist, mittels Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) aufbereitet, um anschließend quantifiziert werden zu können (59).

Das Western-Blot-Verfahren wiederum, welches der Gruppe der Immunoassays zugeordnet wird, stellt eine Methode dar, welche unter anderem ebenso eine Antikörperdetektion und -analyse ermöglicht; wenn nicht-radioaktiv markierte Proteine genutzt werden (59,61). Hierzu erfolgt zunächst die Durchführung einer SDS-PAGE, welches in einer Denaturierung und elektrophoretischen Aufspaltung eines Proteingemisches (Antigenquelle) in einzelne Proteinbanden basierend auf deren Molekulargewicht oder deren Ladung resultiert (61,62). Das dadurch herausgetrennte Antigen wird konsekutiv mithilfe unterschiedlichster Verfahren auf eine Membran transferiert (Blotting), welche beispielsweise aus Nitrozellulose besteht (61,62). Anschließend erfolgt die Inkubation des Probenmaterials (Serum), welches auf das Vorliegen des zu detektierenden Antikörpers untersucht werden soll, mit jener antigen-tragenden Membran (61). Dieser Antikörper wird als sogenannter Primärantikörper bezeichnet (61). Konsekutiv wird ein sogenannter Sekundärantikörper, welcher sich wiederum gegen den im Probenmaterial enthaltenen Primärantikörper richtet, hinzugegeben (61). Sofern im untersuchten Probenmaterial ein antigenspezifischer Antikörper enthalten ist, wird dieser durch jenen gebunden (61). Dieser zumeist enzymgekoppelte Sekundärantikörper ermöglicht wiederum durch einen enzymvermittelten Substratumsatz die Detektion dieser Antikörper-Antikörper-Bindung (61).

#### 1.6.1.3 Nachteile der IP

Dem mit der Durchführung der IP verbundenen erheblichen Kosten- und Zeitaufwand sowie dem Erfordernis nach hoher fachlicher Expertise des Anwenders oder der Anwenderin geschuldet eignet sich jene Methode allerdings nicht zur routinemäßigen, alltäglichen Anwendung in Standardlaboratorien (15,57). Vor diesem Hintergrund sowie den potenziell hohen diagnostischen Nutzwert des MSA-Screenings berücksichtigend wurden konsekutiv zahlreiche kommerziell verfügbare Single- als auch Multiplex-Immunoassays entwickelt (15,18). Die Untersuchung der Validität und Reliabilität der entsprechenden Testverfahren soll somit gemäß Lundberg et al. (4) Gegenstand weiterführender Forschung sein (4).

## 1.6.2 Der Line-Immunoassay (LIA)

Bei dem LIA, welcher ebenso der Gruppe der Immunoassays zugeordnet wird, liegen entsprechend der Namensgebung Antigene in Form von schmalen Linien fixiert auf einer Nitrozellulosemembran vor (63). Durch einen automatisierten Prozess erfolgt in diesem Sinne bei kommerziell verfügbaren LIA die Platzierung der entsprechenden rekombinant hergestellten oder gereinigten Zielantigene stets auf dieselbe Position des Nitrozellulosestreifens, sodass dies nicht vom Anwender oder der Anwenderin im Labor selbst durchgeführt werden muss (55,63). Dieser membranbasierte Immunoassay gestattet folglich den Nachweis von Antikörpern der Klasse Immunglobulin-G (IgG) auf semiquantitative Weise (63). Als geeignetes Probenmaterial kommt sowohl humanes Serum als auch Plasma in Frage (63). Angelehnt an das in Kapitel 1.6.1.2 erläuterte Western-Blot-Verfahren, ermöglicht die Nutzung enzymgekoppelter Sekundäntikörper durch einen enzymvermittelten Substratumsatz die Detektion der im Probenmaterial möglicherweise enthaltenen IgG-Antikörper (63). Der Substratumsatz führt schließlich zu einer Anfärbung und somit zur Visualisierung gebundener Antikörper auf dem Nitrozellulosestreifen (63).

Ein sogenannter multiparametrischer Assay (Multiplex-Assay) wie der LIA gestattet die simultane Testung auf multiple Antikörper, welche ihrerseits mit ihren oben angeführten Zielantigenen interagieren (55). Als weiterer wesentlicher Vorteil des LIA kann die Einfachheit bezogen auf das Ablesen der Resultate angeführt werden, was keine hohe Expertise des Anwenders oder der Anwenderin voraussetzt, da sich die entsprechenden Antigene stets auf derselben Position am Streifen befinden (63). Konklusiv zeichnet sich der LIA somit vor allem durch die Simplizität bezogen auf dessen Durchführung im Rahmen der Antikörperdetektion aus (63). Obgleich die Funktionsweise des LIA jener des Western-Blot-Verfahrens ähnelt, kann der vorangehende Prozess der Antigenaufbereitung, welcher beim Western-Blot-Verfahren eine SDS-PAGE umfasst, als wesentlicher Unterschied angeführt werden (63).

Die einzelnen Arbeitsschritte des in der vorliegenden Diplomarbeit untersuchten LIA (EU-ROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) werden nachfolgend in Kapitel 2.3.1 näher erläutert.

### 1.6.3 Die Reliabilität des Line-Immunoassays

Mahler et al. (64) unterstreichen ebenso das existente Bedürfnis nach alternativen reliablen MSA-Detektionsmethoden sowie nach einer Standardisierung bezüglich der Vorgehensweise der MSA/MAA-Detektion (64). Eine essenzielle Rolle im Rahmen der Beurteilung einer Testmethode spielt die sogenannte Reliabilität, welche auch als Reproduzierbarkeit der Resultate eines diagnostischen Testverfahrens bezeichnet werden kann (65). Ziel der Evaluierung der Reliabilität soll folglich sein, die Frage nach der Zuverlässigkeit einer Testmethode zu beantworten (65). Die Ermittlung des *Cohen's Kappas* dient in diesem Sinne der Quantifizierung des Ausmaßes der Übereinstimmung zwischen den Resultaten einer Goldstandardmethode, wie der beispielsweise oben angeführten IP, sowie jenen einer anderweitigen diagnostischen Testmethode, wie beispielsweise dem LIA (65).

Die von Mahler et al. (64) veröffentlichte Arbeit komparierte in diesem Sinne die Testergebnisse dreier MSA-Nachweismethoden (LIA sowie PMAT im Vergleich zur IP). Dabei konnte als wesentliches Studienergebnis, gemäß Mahler et al. (64), eine insgesamt hohe Übereinstimmung (*Cohen's Kappa* zwischen 0.62 und 0.92 für die neun getesteten Autoantikörper) zwischen den Testergebnissen des rezenter entwickelten LIA (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) und jenen der IP publiziert werden. Eine Testung der insgesamt 157 IIM-Patienten- und -Patientinnensera auf die beiden in dieser Arbeit berücksichtigten MSA, erfolgte unter der Anwendung des LIA in dieser Studie jedoch nicht. (64)

In ähnlicher Weise erfolgte zuvor durch Cavazzana et al. (55) die Publikation einer Arbeit, welche unter anderem ebenso die Intention verfolgte, die Testergebnisse eines LIA (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) mit jenen der Goldstandardmethode (IP) zu vergleichen. Zur Untersuchung der Performance des angewandten LIA wurden Sera von an IIM Erkrankten zur weiteren Analyse mittels LIA (66/66) und IP (57/66) herangezogen. Die Ermittlung des Ausmaßes der Übereinstimmung der Resultate jener Nachweismethoden erfolgte, wie oben angeführt, ebenso unter der Kalkulation des *Cohen's Kappas*, wobei in diesem Fall insgesamt eine mäßige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der beiden untersuchten Testmethoden angeführt werden konnte. Ein geringes Maß an Übereinstimmung (*Cohen's Kappa* von 0.30) konnte hingegen in Bezug auf die Detektion des MSA „*Anti-Jo-1*“ demonstriert werden. Auch an dieser Stelle gilt es zu betonen, dass im Rahmen dieser Studie weder die Testung auf *Anti-HMGCR*- noch auf *Anti-cN1A*-Autoantikörper mittels IP oder LIA erfolgte. (55)

Jene beiden exemplarisch angeführten Studien dienen konklusiv der Demonstration der in der Literatur beschriebenen in Summe moderaten bis hochgradigen Übereinstimmung zwischen den Resultaten der beiden MSA-Detektionsmethoden (LIA vs. IP) (55,64).

#### 1.6.4 Die Validität des Line-Immunoassays

Neben der zuvor in Kapitel 1.6.3 erläuterten Reliabilität gehört ebenso die Validität zu den Gütekriterien einer Diagnostikmethode. Die Ermittlung jener dient der Evaluierung der Fähigkeit eines Testverfahrens, zwischen kranken sowie nicht-erkrankten Individuen zu unterscheiden. Determiniert wird die Validität der Diagnostikmethode wiederum durch die klinische Spezifität sowie die Sensitivität. (66)

Ghirardello et al. (67) testeten dementsprechend mittels LIA (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) insgesamt 208 Sera von an IIM Erkrankten auf das Vorliegen von MSA bzw. MAA. Dabei untersuchten sie erstmalig die Validität der entsprechenden Detektionsmethode im Vergleich zu jener der bisher etablierten Nachweismethoden wie der IP sowie dem Western-Blot-Verfahren. Zudem wurden insgesamt 230 Kontrollsera auf die Präsenz von MSA sowie MAA getestet. Der im Zuge dieser Studie untersuchte LIA umfasste dabei folgenden Antigene: Jo-1, Ku, PL-12, PL-7, Ro52, Mi-2. Die Ergebnisse jener Arbeit gestatten es, gemäß Ghirardello et al. (67), folglich, den untersuchten LIA erstmals als zuverlässige Alternative mit vergleichbarer Validität zu den oben angeführten aufwendigeren Nachweismethoden (IP, Western-Blot-Verfahren) zu definieren. Basierend darauf empfehlen Ghirardello et al. (67) die Anwendung des untersuchten LIA als initiale MSA- bzw. MAA-Screeningmethode im Kontext einer klinisch suspizierten IIM. Die Ermittlung der diagnostischen Sensitivität sowie Spezifität der beiden in der vorliegenden Diplomarbeit berücksichtigten MSA erfolgte zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht. (67)

Im Rahmen der vorliegenden Diagnosestudie sollen vor diesem Hintergrund unter anderem die klinische Sensitivität als auch die klinische Spezifität der *Anti-HMGCR*- sowie *Anti-cN1A*-Autoantikörper-Line-Immunoassaytestung (LIA, Euroimmun, Lübeck, Deutschland), bezogen auf die IIM, evaluiert werden.

Infantino et al. (68) unterstreichen hingegen folgende Problematik bezogen auf die Validität der entsprechenden Nachweismethode: Obgleich rezenter entwickelte MSA-Detektionsmethoden, wie beispielsweise der in der vorliegenden Arbeit untersuchte LIA, eine beachtliche

Sensitivität aufweisen, mangle es ihnen ferner an klinischer Spezifität (68). Dargestellt werden konnte dieser Sachverhalt beispielsweise in der oben angeführten von Cavazzana et al. (55) publizierten Studie aufgrund der in Summe geringen Übereinstimmung der LIA-Testresultate mit den klinisch erhobenen Merkmalen der Erkrankten bzw. den darauf basierend gestellten Diagnosen (55). Zeitgleich wird allerdings die Notwendigkeit der Überprüfung jener Studienergebnisse betont, wozu Cavazzana et al. (55) zufolge jedoch ein größerer Stichprobenumfang erforderlich sei (55).

Während unter der Sensitivität eines Testverfahrens die Wahrscheinlichkeit verstanden wird, dass das entsprechende Verfahren bei einer erkrankten Person korrekterweise ein positives Testresultat liefert („richtig positiv“), beschreibt die oben angeführte Spezifität wiederum die Wahrscheinlichkeit, dass die Testmethode bei einem nicht-erkrankten Individuum korrekterweise ein negatives Testergebnis liefert („richtig negativ“) (66). Zu betonen gilt jedoch, dass die alltägliche Anwendung diagnostischer Testverfahren fallweise sowohl in inkorrekt negativen als auch in inkorrekt positiven Testergebnissen resultiert (66). Der Zusammenhang zwischen der Spezifität sowie der Wahrscheinlichkeit für das Eintreten eines inkorrekt positiven Testresultates kann der folgend dargestellten Gleichung (Formel 1) entnommen werden (66):

**Formel 1: P(inkorrekt positives Testresultat) (erstellt basierend auf der Formel aus Weiß, 2019 (66)).**

$$P(\text{positives Testresultat / nicht – erkranktes Individuum}) = 1 - \text{Spezifität. (66)}$$

Ersichtlich wird anhand dieser Gleichung die Beeinflussung der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines inkorrekt positiven Testergebnisses durch die entsprechende Spezifität des Testverfahrens, wobei eine geringe diagnostische Spezifität zu einer größeren Probabilität für das Auftreten eines falsch positiven Resultates führt (66).

Vor dem Hintergrund der einfachen Handhabung, der Kosteneffizienz sowie der Möglichkeit der alltäglichen Durchführung des LIA in Routinelaboratorien betonen Infantino et al. (68) demzufolge das Bedürfnis nach einer Optimierung der klinischen Spezifität des entsprechenden Testverfahrens. Schließlich resultiert ein inkorrekt positives Testergebnis potenziell in nicht unerheblichen negativen Konsequenzen für den Betroffenen oder die Betroffene. Exemplarisch können hier die Verordnung einer inadäquaten Pharmakotherapie, das Stellen einer Fehldiagnose sowie eine daraus resultierende Beunruhigung des betroffenen Individuums angeführt werden. Konklusiv unterstreichen Infantino et al. (68) die absolute Notwendigkeit einer strengen Validierung rezenter entwickelter Detektionsmethoden wie des LIA, um konsekutiv die Anwendung jenes neuen, reliablen Testverfahrens für die frühzeitige Diagnosestellung einer IIM zu ermöglichen. (68)

## 1.7 Aufzeigen der Forschungslücke

Vor dem Hintergrund der zuvor in Kapitel 1.6.4 angeführten, durch Infantino et al. (68) sowie Cavazzana et al. (55) beschriebenen Problematik bezüglich der mangelnden diagnostischen Spezifität der mittels LIA detektierten Myositisautoantikörper, publizierten Lackner et al. (69) im Jahr 2020 die Resultate einer hauseigenen Diagnosestudie (55,68,69). Untersucht wurden im Zuge dessen 15 mittels LIA detektierte MSA bzw. MAA (69). Jene Studie hatte primär die Ermittlung der diagnostischen Spezifität und Sensitivität dieser Antikörper für das Vorliegen einer IIM zum Ziel; weiters die Berechnung weiterer Kennzahlen, wie des Positiven prädiktiven Wertes (PPV), des Negativen prädiktiven Wertes (NPV), des positiven Likelihood-Quotienten (LQ) sowie des negativen LQ (69).

Lackner et al. (69) betonen in ihrer Studie, die 1.118 Individuen umfasste und deren Sera im Zeitraum von Oktober 2014 bis Oktober 2017 mittels LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien; Euroimmun, Lübeck, Deutschland) auf das Vorliegen von MSA sowie MAA getestet wurden, die Relevanz einer Stichprobe, die den klinischen Alltag bzw. die alltägliche Nutzung des LIA widerspiegelt. Erstmals sollten anhand der in dieser großen Real-Life-Kohorte erfolgten Ermittlung obig angeführter Kennzahlen Aussagen über die Utilität der MSA- bzw. MAA- LIA-Testung, im Setting einer suspeziierten IIM bzw. bei Vorhandensein ausgewählter IIM-assoziierter Symptome (Myalgien, Muskelschwäche, CK-Elevation), für die Diagnosestellung einer IIM getroffen werden können. Für jene inhomogene Stichprobe erfolgte im Sinne einer retrospektiven Datenanalyse die Durchsicht der elektronischen Krankenakten zur Erfassung der jeweiligen, durch den behandelnden Arzt oder die behandelnde Ärztin klinisch gestellten Diagnosen (IIM vs. Non-IIM). Darauf basierend erfolgte konsekutiv für jeden der 15 mittels LIA nachgewiesenen, in der Arbeit berücksichtigten MSA bzw. MAA die Kalkulation der zuvor erwähnten Gütekriterien bzw. Kennzahlen. (69)

An dieser Stelle gilt es zu betonen, dass das Testen der Sera auf das Vorhandensein der beiden im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit untersuchten MSA mittels LIA im Zeitraum von Oktober 2014 bis Oktober 2017 im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz nicht praktiziert wurde. Die Berechnung jener diagnostischen Gütekriterien und Kennzahlen bezogen auf den *Anti-HMGCR*- sowie den *Anti-cN1A*-Autoantikörper konnte im Rahmen dieser Arbeit demnach nicht erfolgen (69).

In einer rezent publizierten (2023), schwedisch-italienischen, retrospektiven Multicenterstudie ermittelten Ghirardello et al. (17) hingegen unter anderem primär die diagnostische Spezifität des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers für die Gruppe der IIM (17). Dieser wurde im Rahmen des Projektes jedoch – im Gegensatz zu der in der vorliegenden Diplomarbeit untersuchten Detektionsmethode – mittels ELISA nachgewiesen (17). Während Lackner et al. (69) die Gütekriterien der MSA- bzw. MAA-LIA-Testung in einer inhomogenen Real-Life-Kohorte ermittelten, setzte sich im Kontrast dazu die kleiner, homogenere Stichprobe der von Ghirardello et al. (17) veröffentlichten Arbeit aus 411 Individuen, die gemäß der im Jahr 2017 etablierten ACR/ EULAR Klassifikation (5) der Gruppe der „definitiv vorliegenden IIM“ zuzuordnen waren, sowie aus 269 Kontrollindividuen zusammen (5,17,69).

Jene Herangehensweise bezüglich der Selektion der in die Studie eingeschlossenen Individuen resultierte gemäß Ghirardello et al. (17) in einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer IIM in eben dieser Stichprobe. Die Ermittlung der diagnostischen Spezifität erfolgte somit im Rahmen jenes Projektes vor dem Hintergrund dieser durch Ghirardello et al. (17) definierten Voraussetzung. (17)

Konträr dazu ergibt sich die Stichprobe der vorliegenden Diagnosestudie aus der folgend in Kapitel 2.1 beschriebenen Vorgehensweise, was wiederum in einer niedrigen Prävalenz der IIM und demnach in einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen der entsprechenden Erkrankung in dieser Stichprobe resultiert.

Das von Ghirardello et al. (17) untersuchte LIA-Myositisprofil umfasste in Summe 16 Autoantikörper aus der Gruppe der MSA und MAA. Die erforderlichen Autoantigene für den Nachweis des *Anti-HMGCR*- sowie des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers waren jedoch nicht auf den LIA-Teststreifen vertreten. Demnach erfolgte ergänzend die Testung von insgesamt 333 Sera (157 IIM-Sera, 176 Kontrollsera) auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers, wie zuvor erwähnt, mittels ELISA. In keinem der Kontrollsera (0/176) konnte jener MSA nachgewiesen werden. Dies resultierte folglich in einer Spezifität des mittels ELISA nachgewiesenen Autoantikörpers von 100 % für die Gruppe der IIM. Als wesentliche Limitation der Arbeit führen Ghirardello et al. (17) jedoch die ausgebliebene Detektion des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers mittels LIA an. Auch das Testen der Sera auf die Präsenz eines *Anti-cNIA*-Autoantikörpers blieb in der entsprechenden Arbeit zur Gänze aus. (17)

Porcelli et al. (70) wiederum veröffentlichten ebenso im Jahr 2023 die Resultate ihrer italienischen, retrospektiven Diagnosestudie. In diese wurden initial 340 Individuen eingeschlossen. Die Sera der Teilnehmer und Teilnehmerinnen wurden, ähnlich zu der in Kapitel 2.1 beschriebenen Vorgehensweise im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit, im Zeitraum von August 2020 bis Dezember 2021 mittels LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) auf das Vorliegen von MSA sowie MAA getestet. Untersucht wurde hier primär die diagnostische Genauigkeit der *Anti-cNIA*-Autoantikörper-LIA-Testung bezogen auf das Vorliegen einzelner IIM-Subsets (IBM, PM, DM, OM, ASyS). 20 der 340 (5.88 %) mittels LIA untersuchten Sera wiesen eine *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität auf. Laut Porcelli et al. (70) stellt dies, bezogen auf die existente Literatur, die erste große Kohorte von *anti-cNIA*-Autoantikörperpositiven Individuen dar. (70)

Basierend auf der für jene 20 *anti-cNIA*-Autoantikörper-positiven Individuen durchgeführten retrospektiven Datenanalyse konnten lediglich 2 von 20 Individuen, konträr zu der in Kapitel 2.4 erläuterten Vorgehensweise im Zuge der vorliegenden Arbeit, bei Erfüllung der ENMC-IBM-Diagnostikkriterien (45), mit einer IBM diagnostiziert werden (45,70). 6 von 20 Personen wurden mit einem anderweitigen IIM-Subtyp (PM, DM, OM) diagnostiziert (70). 12 von 20 Individuen wiesen schließlich eine IIM-unabhängige Tumor-, Lungen-, Muskel- oder Autoimmunerkrankung auf (70). Die Forschungsgruppe rund um Porcelli (70) fokussierte dabei im Rahmen des Projektes, wie eingangs erwähnt, primär auf die Ermittlung der diagnostischen Genauigkeit des mittels LIA detektierten Myositisautoantikörpers (70). Die Berechnung der beiden die Validität definierenden Gütekriterien (Sensitivität, Spezifität) des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers konnte, der obig erläuterten Herangehensweise bezüglich der retrospektiven Datenanalyse geschuldet, durch Porcelli et al. (70) jedoch, insbesondere für die Gruppe der IIM im Allgemeinen, wie in der vorliegenden Diagnosestudie durchgeführt, nicht erfolgen (70). Dies wird folglich als wesentliche Limitation jener Studie angeführt, wodurch wiederum Raum für weiterführende Forschung, insbesondere für die Ermittlung der diagnostischen Sensitivität des mittels LIA detektierten *Anti-cNIA*-Autoantikörpers für das Erkennen einer IIM, geboten wird (70).

Jene durch Ghirardello et al. (17) gewählte Vorgehensweise bezüglich der Stichprobenformierung, welche in einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen der IIM in der entsprechenden Stichprobe resultierte und die nicht erfolgte Durchführung der *Anti-cNIA*-

Autoantikörperbestimmung sowie jene durch Porcelli et al. (70) nicht erfolgte Testung auf die Präsenz des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers und die in diesem Kapitel angeführten Limitationen der beiden Studien formieren konsekutiv eine Forschungslücke (17, 70). Deren Inhalt soll die Vorgehensweise sowie die folgend in Kapitel 1.7.1 erläuterte Intention bzw. Forschungsfrage der vorliegenden Diplomarbeit begründen.

### 1.7.1 Die Intention der vorliegenden Arbeit & Forschungshypothese

Vor dem Hintergrund der aufgezeigten Forschungslücke sollen im Rahmen der Diplomarbeit, welche als Extension der obig angeführten hauseigenen, durch Lackner et al. (69) publizierten Diagnosestudie definiert werden kann, zunächst jene beiden in Kapitel 2.5.1 (Formel 2, Formel 3) angeführten Kennzahlen (diagnostische Spezifität sowie Sensitivität) zur Quantifizierung der Qualität der im Rahmen der vorliegenden Studie untersuchten Autoantikörperdetektionsmethode (*Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cN1A-LIA*) berechnet werden (69,71). Darauf basierend soll die Beurteilung der Utilität der beiden mittels LIA detektierten MSA für den klinischen Alltag, bezogen auf den IIM-Diagnostikprozess, erfolgen. Als Goldstandard (Tabelle 7) zur Kalkulation jener Gütekriterien im Zuge dieser Diagnosestudie, wurde, für diese Arbeit, die durch den behandelnden Arzt oder die behandelnde Ärztin dokumentierte, klinisch gestellte bzw. im Krankenhausinformationssystem ersichtliche Diagnose festgelegt.

Im Konsens mit Lackner et al. (69) repräsentiert unseres Erachtens die große inhomogene Real-Life-Stichprobe der vorliegenden Diagnosestudie (Kapitel 2.1) mitsamt den Testanforderungsgründen die alltägliche klinische Anwendung der MSA-LIA-Testung am wirklichkeitsgetreuesten (69). Dies resultiert konsekutiv in der Berechnung sämtlicher Kennzahlen im Setting einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer IIM in der Stichprobe der vorliegenden Arbeit.

Die obig angeführte diagnostische Spezifität und Sensitivität stellen die Validität bestimmende Kennzahlen dar. Diese dienen dabei der Charakterisierung des im Rahmen der Diplomarbeit untersuchten LIA selbst. Für den behandelnden Kliniker bzw. die behandelnde Klinikerin sowie für die möglicherweise an einer IIM erkrankten Person sind jedoch primär die in Kapitel 2.5.1 angeführten prädiktiven Werte (PPV, NPV) (Formel 4, Formel 5) von Interesse. Jene beiden Werte, welche im Rahmen dieser Diagnosestudie ebenso für die beiden in der Arbeit berücksichtigten, mittels LIA detektierten MSA getrennt berechnet werden, sind jedoch abhängig von der Prävalenz der IIM in der vorliegenden Real-Life-Stichprobe. Sie sind repräsentativ für die Wahrscheinlichkeiten, bei Vorliegen eines positiven

oder eines negativen Myositisautoantikörperstatus, in der Tat an einer IIM erkrankt oder nicht erkrankt zu sein. (65,71)

Die vorliegende Diplomarbeit soll primär darauf basierend (PPV) dazu dienen, Aussagen über den diagnostischen Stellenwert bzw. die Utilität der *Anti-HMGCR*- sowie *Anti-cN1A*-Autoantikörperbestimmung mittels LIA für den klinischen Alltag, bezogen auf den diagnostischen Work-up, treffen zu können.

Vor dem Hintergrund des in den vorangehenden Absätzen dieses Kapitels Geschilderten wird nun die folgende Forschungshypothese aufgestellt: Die extensive Anwendung der *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cN1A*-LIA-Testung resultiert aufgrund der beispielsweise durch Khoo et al. (2) beschriebenen, niedrigen Prävalenz der Erkrankung und der demzufolge niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer IIM in dieser Real-Life-Stichprobe in geringen PPV der beiden MSA. Niedrige PPV würden unseres Erachtens die Utilität dieser Testungen im Setting einer ausschließlich suspektierten IIM bzw. bei Vorhandensein krankheitsunspezifischer Symptome limitieren. Konklusiv würden sich die *Anti-HMGCR*- bzw. die *Anti-cN1A*-LIA-Testung nicht als primäres Diagnostiktool des Klinikalltags für die Diagnosestellung einer IIM in eben diesem Setting eignen. Zudem wird erwartet, dass bei der hier separat für die beiden Autoantikörper des Myositisblots erfolgten Kalkulation der klinischen Sensitivitäten (Formel 3) diese niedrig ausfallen. Das wiederum beeinflusst, der direkten Proportionalität zur Sensitivität geschuldet (Formel 4), die PPV und somit die diagnostische Nützlichkeit der beiden MSA für den Klinikalltag ebenso negativ.

Additiv werden sowohl der positive als auch der negative LQ (Formel 6, Formel 7) separat für die beiden in der Diplomarbeit berücksichtigten MSA ermittelt.

Diese stellen vorteilhafterweise prävalenzunabhängige Kennzahlen der untersuchten Autoantikörperdetektionsmethode dar. Basierend auf den LQ können infolgedessen Aussagen darüber getätigt werden, um welchen Prozentsatz sich die Chance für das tatsächliche Vorliegen einer IIM bei einem negativen oder einem positiven Myositisautoantikörperstatus ändert. (71)

Zusätzlich sollen neben der in den vorangehenden Absätzen dieses Unterkapitels erläuterten Hauptzielsetzung dieser Arbeit bzw. der Berechnung der PPV der beiden MSA für das tatsächliche Vorliegen einer Malignom- bzw. Autoimmunerkrankung, welche jedoch nicht der Gruppe der IIM angehört, Korrelationsanalysen durchgeführt werden.

Diese sollen vor dem Hintergrund der in Kapitel 1.4.3 angeführten – durch Mohassel et al. (27) bzw. Pinal-Fernandez et al. (24) beschriebenen Tatsache –, dass bei einem Großteil der Individuen der Erkrankungsbeginn einer *Anti-HMGCR*- Myopathie bei etwa 55 Jahren liegt sowie der durch Naddaf et al. (43) beschriebenen, in Kapitel 1.5.2 angeführten Tatsache, dass Personen, welche jenseits des 50. Lebensjahres an einer erworbenen Form der Myopathie erkranken, zumeist von einer IBM betroffen sind, dazu dienen, eine potenziell vorhandene, statistisch signifikante Korrelation zwischen dem Personenalter sowie der *Anti-HMGCR*- bzw. der *Anti-cN1A*-Titerhöhe aufzuzeigen (24,27,43).

Darüber hinaus sollen aufgrund des von Infantino et al. (68) definierten, in Kapitel 1.6.4 geschilderten Bedürfnisses nach einer Optimierung der klinischen Spezifität des im Rahmen dieser Diplomarbeit untersuchten Testverfahrens, Receiver Operating Characteristic (ROC)-Analysen durchgeführt werden (68). Hiermit sollen neue, für die Gruppe der IIM möglicherweise spezifischere MSA-Signalintensitätsschwellenwerte identifiziert werden.

## 2 Patienten & Patientinnen, Material & Methoden

### 2.1 Patienten- & Patientinnengut, Stichprobenumfang & Aufbereitung der Listendatei

Basierend auf der in Kapitel 1.7 aufgezeigten Forschungslücke sowie der in Kapitel 1.7.1 erläuterten Intention der vorliegenden Arbeit erfolgte meinerseits in einem ersten wesentlichen Arbeitsschritt, nach erfolgter Ausgabe einer Listendatei (Ausgangsliste) von Seiten des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz, die Aufbereitung derselben zur weiteren Nutzung für die im Zuge dieser Diplomarbeit durchgeführten retrospektiven Datenanalyse. Deren darin enthaltenen Einträge ergaben sich wiederum aus sämtlichen MSA- sowie MAA-Testungen, welche im oben angeführten Labor im Zeitraum von Oktober 2020 bis Oktober 2021 mittels in Kapitel 2.3 angeführtem LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) durchgeführt wurden. Sowohl positive als auch negative Testresultate, bezogen auf das Vorhandensein jener beiden in der Diplomarbeit berücksichtigten Autoantikörper in den getesteten Sera, waren Inhalt jener Listendatei.

Nach primär erfolgter Durchsicht der durch das Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz ausgegebenen Datei wurde ersichtlich, dass Sera zahlreicher Individuen in diesem Zeitraum doppelt oder mehrfach auf das Vorhandensein der beiden berücksichtigten Autoantikörper getestet wurden. Dementsprechend erfolgte meinerseits die Adaption der Listendatei wie folgt: Die Testresultate der im oben definierten Zeitraum durchgeführten Zweit- oder Mehrfachtestungen wurden aus der Liste entfernt, sodass konsekutiv lediglich das aktuellste Testergebnis in die statistische Datenanalyse miteinbezogen wurde. Wie vorab im Studienprotokoll angeführt, sollten außerdem lediglich die Testergebnisse adulter Individuen (18 Jahre oder älter) in die Datenanalyse miteinbezogen werden, sodass demzufolge meinerseits die Entfernung jener LIA-Testresultate, welche auf Individuen mit einem Alter von unter 18 Jahren zum Testzeitpunkt zurückzuführen waren, aus der Datei erfolgte. Konsekutiv überprüfte ich die in der Listendatei verbliebenen Individuen (ungekürzte Stichprobe) im Sinne einer retrospektiven Datenanalyse auf das für die Ermittlung der in Kapitel 1.7.1 definierten Parameter erforderliche Vorhandensein eines ausreichenden Datengehalts (Angaben im Krankenhausinformationssystem bzw. in den elektronischen Krankenakten), sodass Personen mit unzureichend vorhandenen klinischen Angaben ebenso aus der Datei entfernt wurden. Konkursiv ergab sich daraus ein Stichprobenumfang von 1.076 Testungen (finale Stichprobe).

Der in diesem Unterkapitel erläuterte, für den Erhalt des finalen Stichprobenumfangs (n=1.076) erforderliche Prozess der Listenaufbereitung wird zudem in Abbildung 3 zusammenfassend dargestellt.

Die Durchführung der im Zuge dieser Diagnosestudie ausgeführten retrospektiven Datenanalyse wurde durch das Votum der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt (EK-Nummer: 1041/2024). Das retrospektive Studiendesign berücksichtigend wurde, basierend auf der zuvor erfolgten Genehmigung durch die Ethikkommission, auf das Einholen der informierten Einwilligung jener Individuen, deren Daten und klinische Angaben im Zuge der retrospektiven Datenanalyse gesammelt und konsekutiv für die statistische Datenanalyse genutzt wurden, verzichtet.

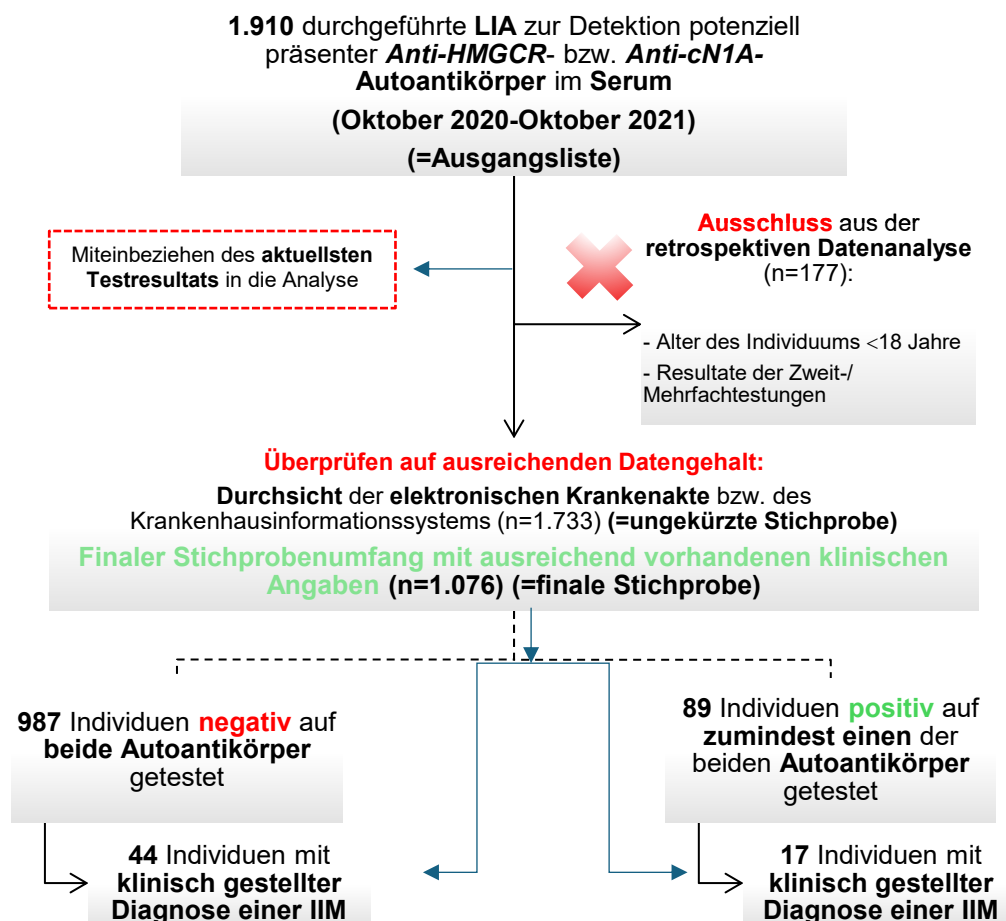


Abbildung 3: Flussdiagramm zur Darstellung des Prozesses der Listenaufbereitung sowie der konsekutiven Datenanalyse.

## 2.2 Materialien des Testkits

**Tabelle 5: Testsatzbestandteile des Line-Immunoassays (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) (erstellt basierend auf der Tabelle aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).**

Testkitbestandteil	Firma
<b>Antigenbeschichtete Teststreifen (18 Antigene):</b> <b>cN1A, HMGCR,</b> OJ, EJ, PL-12, PL-7, SRP, Ro52, Jo-1, PM/ScI-75, PM/ScI-100, Ku, NXP2, SAE1, MDA-5, TIF1 $\gamma$ , Mi-2 $\alpha$ , Mi-2 $\beta$	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)
<b>Konzentrierte (hundertfach) Positivkontrolle</b>	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)
<b>Konzentrierter (zehnfach) AP-konjugierter Sekundärantikörper (=Enzymkonjugat): Ziegen-anti-Human-IgG</b>	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)
<b>Probenpuffer</b>	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)
<b>Substratlösung: Nitroblautetrazoliumchlorid/5-Brom-4-chlor-3-indolyphosphat (NBT/BCIP)</b>	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)
<b>Konzentrierter (zehnfach) Waschpuffer</b>	Euroimmun (Lübeck, Deutschland)

## 2.3 MSA-Line-Immunoassay

### 2.3.1 Inkubations- & Arbeitsschritte

Nach dem in Kapitel 1.6.2 angeführten grundlegenden Funktionsprinzip eines LIA werden folgend, um einen Überblick zu bieten, bündig die einzelnen Arbeits- sowie Inkubationsschritte (Abbildung 4) des im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz angewandten LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) erläutert:

Der im hauseigenen Labor genutzte, kommerziell erhältliche LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) ermöglicht dabei dem Anwender oder der Anwenderin die Detektion folgender 18 MSA sowie MAA (IgG-Autoantikörper), welche mitsamt ihrer Targetstrukturen ebenso Tabelle 4 entnommen werden können: *Anti-HMGCR-*, *Anti-cN1A-*, *Anti-OJ-*, *Anti-EJ-*, *Anti-SRP-*, *Anti-Jo-1-*, *Anti-PL-7-*, *Anti-PL-12-*, *Anti-Ku-*, *Anti-SAE1-*, *Anti-PM/ScI-75-*, *Anti-PM/ScI-100-*, *Anti-MDA-5-*, *Anti-NXP2-*, *Anti-TIF1 $\gamma$ -*, *Anti-Mi-2 $\alpha$ -*, *Anti-Mi-2 $\beta$ -*, *Anti-Ro52*-Autoantikörper. (72)

In der retrospektiven Datenanalyse der vorliegenden Diplomarbeit wurden, wie in Kapitel 1.1 erwähnt, lediglich die Resultate der *Anti-HMGCR*- sowie der *Anti-cNIA-LIA*-Autoantikörperbestimmung berücksichtigt.

Den ersten Arbeitsschritt stellt die Einlage des in Tabelle 5 angeführten Membranstreifens, welcher seinerseits mit den 18 obig angeführten gereinigten oder rekombinanten Zielantigenen für die entsprechenden Autoantikörper beschichtet ist, in die Rinne einer sogenannten Inkubationswanne dar, in welcher nachfolgend sämtliche Inkubationsschritte durchgeführt werden sollen (72).

Anschließend soll zur Befeuchtung und Präparation des Streifens das Befüllen jener die Teststreifen enthaltenden Rinne mit 1,5 ml des in Tabelle 5 angeführten Probenpuffers erfolgen, der seinerseits in gebrauchsfertiger Form im Testsatz enthalten ist und somit vor dessen Anwendung nicht verdünnt wird (72).

Nach einer fünfminütigen Inkubationsdauer auf dem Wippschüttler bei Raumtemperatur (RT) ( $\cong + 18^{\circ}\text{C}$  bis  $+ 25^{\circ}\text{C}$ ) sowie dem konsekutiven Absaugen des in der Inkubationsrinne enthaltenen Probenpuffers soll das Befüllen der Rinne mit 1,5 ml der entsprechend vorbereiteten, bei einer Temperatur von  $+ 2^{\circ}\text{C}$  bis  $+ 8^{\circ}\text{C}$  gelagerten, Patientenprobe (humanes Plasma oder Serum) (15  $\mu\text{l}$  pro Streifen) erfolgen, welche vorab in einem Verdünnungsverhältnis von 1:101 mit dem Probenpuffer zu verdünnen ist, um das oben angeführte Gesamtvolumen von 1,5 ml zu erhalten (72).

Die konsekutiv durchzuführende Inkubation, wobei die vorab angeführte, verdünnte Plasma- oder Serumprobe mit dem antigenbeschichteten Streifen bei RT für insgesamt 30 Minuten auf dem Wippschüttler zu inkubieren ist, stellt den ersten Hauptschritt des Arbeitsprozesses dar (72).

Auf das im Anschluss zu erfolgende Absaugen der in der Inkubationsrinne enthaltenen Flüssigkeit folgt der erste Waschvorgang des Teststreifens. Hierbei wird der in der Inkubationsrinne liegende Streifen für eine Dauer von drei mal fünf Minuten auf dem Wippschüttler mit jeweils 1,5 ml des zuvor entsprechend vorbereiteten, ebenso in Tabelle 5 angeführten, Waschpuffers gewaschen. Jener im Testkit enthaltene Waschpuffer liegt in einer zehnfach konzentrierten Form vor, weshalb er vor seiner Anwendung mit destilliertem Wasser in einem Verhältnis von 1:10 zu verdünnen ist. (72)

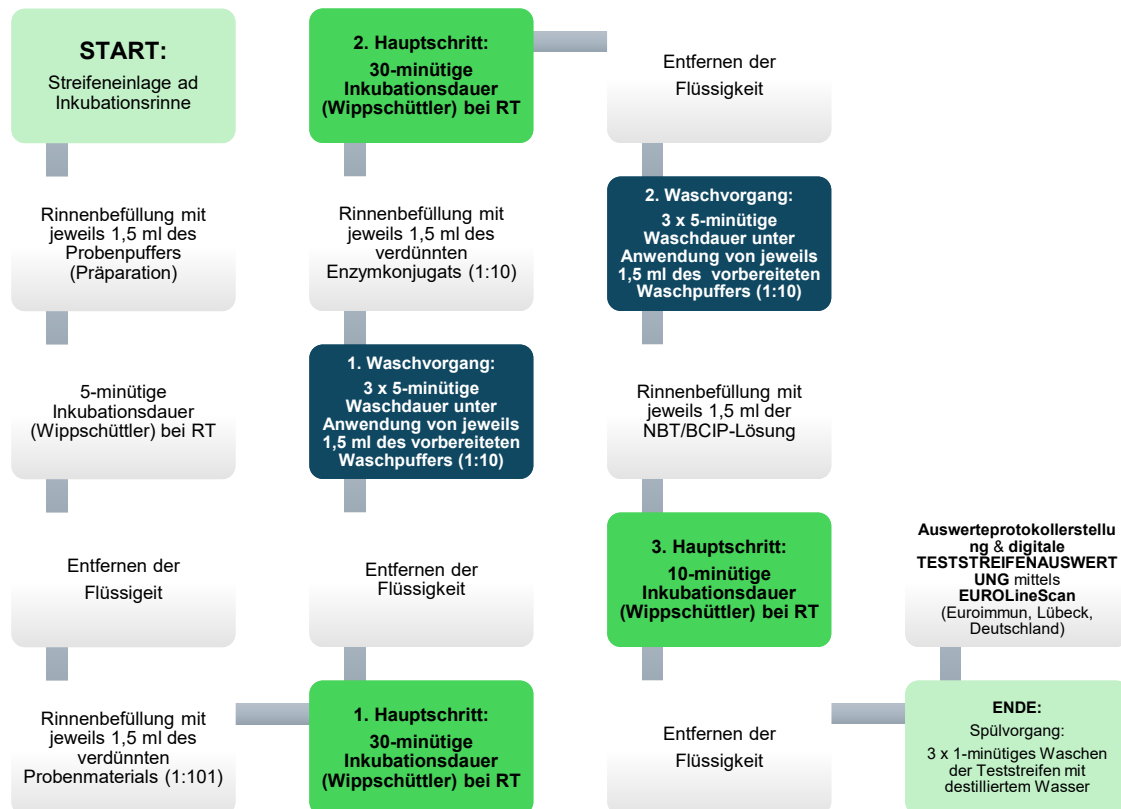
Konsekutiv soll das Pipettieren von 1,5 ml des in Tabelle 5 angeführten, entsprechend vorbereiteten Enzymkonjugats (Sekundärantikörper) (0,15 ml pro Streifen) in die den Teststreifen enthaltende Rinne erfolgen. Der im Testsatz enthaltene Ziegen-anti-Human-IgG-Antikörper, welcher mit dem Enzym Alkalische Phosphatase (AP) markiert ist, liegt ebenso in einer zehnfach konzentrierten Form vor, weshalb das Enzymkonjugat mit dem gebrauchsfertigen Probenpuffer in einem Verhältnis von 1:10 zu verdünnen ist, um das vorab angeführte Gesamtvolumen von 1,5 ml zu erhalten. Die nachfolgende 30-minütige Inkubation des Streifens mit dem Sekundärantikörper bei RT auf dem Wippschüttler stellt somit den zweiten Hauptschritt des Arbeitsprozesses dar. (72)

Nach erneutem vollständigem Entfernen der in der Rinne enthaltenen Flüssigkeit sowie dem darauffolgend durchzuführenden zweiten Waschvorgang des Teststreifens, welcher analog zum ersten durchzuführen ist, soll das Befüllen der Inkubationsrinne mit 1,5 ml der im Testkit enthaltenen in Tabelle 5 aufgelisteten NBT/BCIP-Lösung erfolgen, welche in gebrauchsfertiger Form vorliegt und das Substrat für jenes oben angeführte den Sekundärantikörper markierende Enzym darstellt. Diese Lösung muss somit nicht verdünnt werden. (72)

Wie bereits in Kapitel 1.6.2 erläutert, führt der durch das entsprechende Enzym katalysierte Umsatz des Substrats folglich zu einer Anfärbung (Farbreaktion) und somit zur Visualisierung gebundener Antikörper auf dem Teststreifen (Abbildung 5, Abbildung 6) (63,72).

Das Inkubieren des Streifens mit 1,5 ml der NBT/BCIP-Lösung für zehn Minuten bei RT auf dem Wippschüttler stellt den dritten Hauptschritt des Arbeitsprozesses dar. Auch jene Lösung soll im Anschluss daran zur Gänze aus der Inkubationsrinne abgesaugt werden. Um nun die Interaktion zwischen den Antikörpern sowie den entsprechenden Zielantigenen zu stoppen, soll an dieser Stelle die Spülung des in der Rinne positionierten Teststreifens mit destilliertem Wasser für eine Dauer von dreimal einer Minute erfolgen. (72)

Der in diesem Unterkapitel erläuterte Arbeitsprozess wird nachstehend in Abbildung 4 zusammenfassend dargestellt.



**Abbildung 4: Arbeitsprozess der Durchführung des im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz angewandten LIA (EUROLINE® Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGR (IgG); Euroimmun, Lübeck, Deutschland) (erstellt basierend auf den Informationen aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).**

### 2.3.2 Digitale Teststreifenauswertung & Interpretation

Das im Anschluss an den Spülvorgang zu erfolgende Entfernen der feuchten Membranstreifen aus den Inkubationsrinnen sowie das darauffolgende Aufziehen jener auf eine adhäsive Folie mit einem darunterliegenden grün kolorierten Papier dient folglich der Erstellung von Auswerteprotokollen (Abbildung 5, Abbildung 6), welche für die semiquantitative Teststreifenauswertung mithilfe der im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz angewandten EUROLIneScan-Software (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) benötigt werden. Das Anhaften der 16 Teststreifen auf der entsprechenden Folie gelingt durch das Andrücken der feuchten Membranstreifen mit einem Filterpapier sowie die konsekutive Trocknung jener an der Luft. Die nun in den Abbildungen 5 und 6 exemplarisch dargestellten, fertiggestellten Arbeitsprotokolle werden mithilfe eines sogenannten Flachbettscanners (Abbildung 7), zum Zweck der darauffolgenden digitalen Teststreifenauswertung, eingescannt. (72)

**EUROLineScan - Protokoll** Seite 1 von 1

Bearbeitet von: [redacted] Datum: [redacted]  
 Protokoll: [redacted] Gedruckt: [redacted]

Nr.	Patient / Test	Charge	Streifen
1	[redacted]		MYO 8/ 109-65
2	[redacted]		MYO 8/ 109-66
3	[redacted]		MYO 8/ 109-67
4	[redacted]		MYO 8/ 109-68
5	[redacted]		MYO 8/ 109-69
6	[redacted]		MYO 8/ 109-70
7	[redacted]		MYO 8/ 109-71
8	[redacted]		MYO 8/ 109-72
9	[redacted]		MYO 8/ 109-73
10	[redacted]		MYO 8/ 109-74
11	[redacted]		MYO 8/ 109-75
12	[redacted]		MYO 8/ 109-76
13	[redacted]		MYO 8/ 109-77
14	[redacted]		MYO 8/ 109-78
15	[redacted]		MYO 8/ 109-79
16	[redacted]		MYO 8/ 109-80

**Abbildung 5: Auswerteprotokoll mit zwei *Anti-HMGCR*-Banden (rot umrandet) auf den Teststreifen 5 und 13 (Pfeile) sowie den entsprechenden Kontrollbanden (gelb umrandet). Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.**

Nummer 5 sowie Nummer 13 jenes Auswerteprotokolls weisen beide eine *Anti-HMGCR*-Autoantikörperbande auf, wobei jene der Nummer 5 gemäß dem Hersteller (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) einer sehr starken (Tabelle 6), sowie jene der Nummer 13 einer starken Autoantikörperbande (Tabelle 6) entsprechen (72).

Als Referenz dienen hierzu die ebenso in Abbildung 5 ersichtlichen Intensitäten der entsprechenden Kontrollbanden (72).

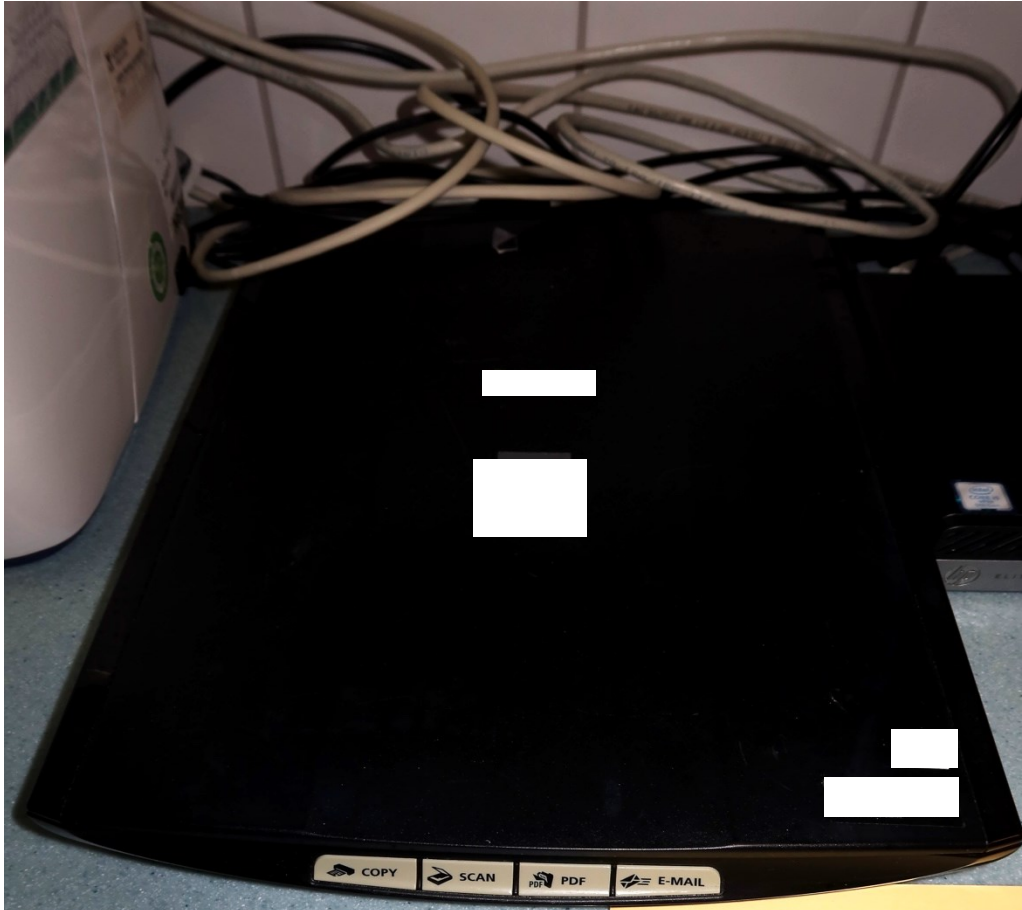
**EUROLineScan - Protokoll** Seite 1 von 1

Bearbeitet von: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_  
 Protokoll: \_\_\_\_\_ Gedruckt: \_\_\_\_\_

No.	Patient / Test	Charge	Streifen
1	_____		MYO 8/ 164-13
2	_____		MYO 8/ 164-14
3	_____		MYO 8/ 164-15
4	_____		MYO 8/ 164-16
5	_____		MYO 8/ 164-17
6	_____		MYO 8/ 164-18
7	_____		MYO 8/ 164-19
8	_____		MYO 8/ 164-20
9	_____		MYO 8/ 164-21
10	_____		MYO 8/ 164-22
11	_____		MYO 8/ 164-23
12	_____		MYO 8/ 164-26
13	_____		MYO 8/ 164-27
14	_____		MYO 8/ 164-28
15	_____		MYO 8/ 164-29
16	_____ →		MYO 8/ 164-30

**Abbildung 6: Auswerteprotokoll mit einer *Anti-cN1A*-Bande (rot umrandet) auf dem Teststreifen 16 (Pfeil) sowie die entsprechende Kontrollbande (gelb umrandet). Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.**

Abbildung 6 hingegen zeigt eine der Nummer 16 des Auswerteprotokolls zugehörigen *Anti-cN1A*-Bande, wobei diese gemäß dem Hersteller (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) einer sehr starken Autoantikörperbande (Tabelle 6) entspricht (72).



**Abbildung 7: Flachbettscanner zum Einscannen der Auswerteprotokolle. Die Aufnahme und die Verwendung der vorliegenden Abbildung wurde dankenswerterweise durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen des Immunologielabors des Universitätsklinikums Graz sowie durch Euroimmun, Lübeck, Deutschland genehmigt.**

Die konsekutive Interpretation der Teststreifenauswertung erfolgt im Immunologielabor des Universitätsklinikums Graz bei Anwendung der obig angeführten Software, gemäß den Empfehlungen des Herstellers (Euroimmun, Lübeck, Deutschland), basierend auf den Signalintensitäten der auf den Teststreifen lokalisierten, durch die AP-katalysierte Farbreaktion entstandenen Banden (72).

Die Herstellerempfehlung bezüglich der Testresultatinterpretation kann nachfolgend Tabelle 6 entnommen werden.

**Tabelle 6: Herstellerempfehlung bezüglich der Interpretation der digitalen Teststreifenauswertung (erstellt basierend auf der Tabelle aus der Gebrauchsanweisung sowie mit Genehmigung von Euroimmun, Lübeck, Deutschland (72)).**

Sichtbarkeit der Autoantikörperbande	Signalintensitäten der Banden gemäß der EUROLIneScan-Software (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) in willkürlichen Einheiten	Empfohlene Interpretation: Testresultat
sehr schwach	6–10	grenzwertig
deutlich	<b>11–25</b>	<b>positiv</b>
stark	<b>26–50</b>	<b>positiv</b>
sehr stark	<b>&gt; 50</b>	<b>stark positiv</b>
keine Bande	0–5	negativ

Entsprechend der in Tabelle 6 ersichtlichen Empfehlung des Herstellers (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) wurde im Rahmen der vorliegenden Diagnosestudie das Serum eines Individuums dann als *anti-HMGCR*- oder *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiv gewertet, sofern die Signalintensität der entsprechenden LIA-Bande über zehn willkürliche Einheiten betrug.

## 2.4 Patienten- & Patientinnendaten

Zusätzlich zu den in der in Kapitel 2.1 angeführten Listendatei enthaltenen LIA-Testresultaten sowie dem berechneten Personenalter in Jahren zum Abnahmezeitpunkt der Serumprobe wurden die elektronischen Krankenakten der Personen der ungekürzten Stichprobe bzw. das Krankenhausinformationssystem, im Sinne der retrospektiven Datenanalyse, auf das Vorhandensein einer vom behandelnden Arzt oder der behandelnden Ärztin vom Testzeitpunkt bis zur Gegenwart klinisch gestellten, ebendort dokumentierten bzw. ersichtlichen IIM-Diagnose durchsucht. Die Krankenakten *anti-HMGCR*- sowie *anti-cN1A*-positiver Individuen wurden zudem in gleicher Weise auf das Vorliegen einer klinisch gestellten ILD-Diagnose sowie auf das Vorhandensein einer Malignom- bzw. Autoimmunerkrankung, welche jedoch nicht der Gruppe der IIM zugeordnet wird, überprüft.

Wie eingangs erläutert, wurden die Einträge jener Individuen, welche einen diesbezüglich unzureichenden klinischen Datengehalt in deren elektronischen Krankenakten aufwiesen, aus der Listendatei entfernt. Da die Resultate der Zweit- oder Mehrfachtestungen der in dem zuvor in Kapitel 2.1 definierten Zeitraum getesteten Personen ebenso aus der Listendatei entfernt wurden, wurde bei jedem Individuum lediglich das aktuellste LIA-Testergebnis in der konsekutiv erfolgten statistischen Datenanalyse bzw. in den Berechnungen berücksichtigt.

## 2.5 Statistische Datenanalyse

### 2.5.1 Kennzahlen des mittels LIA detektierten Anti-HMGCR- & Anti-cN1A-Autoantikörpers

Wie in Kapitel 1.7.1 angeführt, erfolgte meinerseits, im Anschluss an die im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit durchgeführten retrospektiven Datenanalyse, zur Beantwortung der in Kapitel 1.7 erläuterten Forschungsfrage bzw. zur Evaluierung der diagnostischen Güte der *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-LIA-Testung bezogen auf die Diagnosestellung einer IIM, gesondert für jene beiden MSA, primär die Kalkulation der beiden die Validität definierenden Gütekriterien, basierend auf der Erstellung einer Vierfeldertafel (Tabelle 7) bzw. der anschließenden Anwendung der nachfolgend angeführten Formeln (66,71):

**Tabelle 7: Eine die Entscheidungsmöglichkeiten des LIA-Testverfahrens darstellende Vierfeldertafel (erstellt basierend auf der Vierfeldertafel aus Held, 2013 (71)).**

LIA-Testergebnis	Klinisch „Non-IIM“ (Goldstandard)	Klinisch „IIM“ (Goldstandard)
negatives Testergebnis („Non-IIM“)	korrekt negatives Testergebnis (in absoluten Häufigkeiten)	inkorrekt negatives Testergebnis (in absoluten Häufigkeiten)
positives Testergebnis („IIM“)	inkorrekt positives Testergebnis (in absoluten Häufigkeiten)	korrekt positives Testergebnis (in absoluten Häufigkeiten)

Aus jener obig dargestellten Vierfeldertafel können folgende im Rahmen der statistischen Datenanalyse angewandte Formeln abgeleitet werden (71):

**Formel 2: Spezifität (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{\text{korrekt negatives Testergebnis}}{(\text{korrekt negatives Testergebnis} + \text{inkorrekt positives Testergebnis})}. (71)$$

**Formel 3: Sensitivität (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{\text{korrekt positives Testergebnis}}{(\text{korrekt positives Testergebnis} + \text{inkorrekt negatives Testergebnis})}. (71)$$

In einem zweiten Arbeitsschritt erfolgte meinerseits anschließend an die Bestimmung der Prävalenz der IIM in der finalen Stichprobe (61/1.076  $\hat{=}$  5.67 %) sowie nach erfolgter Kalkulation der in Formel 2 sowie Formel 3 dargestellten Gütekriterien des untersuchten Testverfahrens – ebenso gesondert für die beiden in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten MSA – die Berechnung zweier weiterer Kennzahlen des in Kapitel 2.3 angeführten diagnostischen Testverfahrens unter Anwendung der nachfolgend angeführten Formeln:

**Formel 4: PPV (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{\text{Formel 3} \times \text{Prävalenz}}{\text{Formel 3} \times \text{Prävalenz} + (1 - \text{Formel 2}) \times (1 - \text{Prävalenz})}. (71)$$

Alternativ kann der PPV als Quotient der Anzahl korrekt positiver Testergebnisse und der Summe aus den korrekt positiven sowie inkorrekt positiven Testergebnissen definiert werden (73).

Die derartige Vorgehensweise bezüglich der Berechnung jenes Vorhersagewertes war schließlich für den Erhalt der PPV der beiden MSA für das tatsächliche Vorliegen einer Malignom- bzw. Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM zuzuordnen ist, als auch für die Ermittlung des PPV des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers für das Vorliegen eines SLE bzw. eines primären SjS erforderlich.

**Formel 5: NPV (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{\text{Formel 2} \times (1 - \text{Prävalenz})}{\text{Formel 2} \times (1 - \text{Prävalenz}) + (1 - \text{Formel 3}) \times \text{Prävalenz}}. (71)$$

Additiv erfolgte konsekutiv in einem dritten Arbeitsschritt, ebenso unter der Verwendung der vorab ermittelten Gütekriterien (Formel 2, Formel 3), erneut gesondert für die beiden MSA die Berechnung der beiden LQ wie folgt:

**Formel 6: Positiver LQ (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{\text{Formel 3}}{1 - \text{Formel 2}}. (71)$$

**Formel 7: Negativer LQ (erstellt basierend auf der Formel aus Held, 2013 (71)).**

$$\frac{1 - \text{Formel 3}}{\text{Formel 2}}. (71)$$

## 2.5.2 Korrelationsanalysen

Nach erfolgter Überprüfung der Verteilungseigenschaften der Variablen „Personenalter in Jahren“ bzw. „*Anti-HMGCR*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ sowie „*Anti-cNIA*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ in der ungekürzten Stichprobe wurden, bezogen auf die beiden in der vorliegenden Arbeit berücksichtigten MSA, getrennte Korrelationsanalysen durchgeführt, um einen etwaig vorhandenen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Personenalter sowie den MSA-Titerhöhen zu identifizieren. Aufgrund der rechtsschiefen Verteilung der Autoantikörperspiegel der beiden

MSA in dieser Stichprobe erfolgte die Kalkulation des Spearman-Korrelationskoeffizienten. Ein  $p$ -Wert von  $< 0.01$  kennzeichnet dabei ein statistisch signifikantes Resultat.

### 2.5.3 ROC-Analysen

Zudem wurde, im Sinne einer Ergänzung zu der von Lackner et al. (69) publizierten Arbeit, ebenso separat für jeden der beiden MSA eine ROC-Analyse mitsamt der Darstellung der dazugehörigen ROC-Kurve zur Identifikation möglicherweise spezifischerer Schwellenwerte durchgeführt.

Sämtliche Berechnungen, Korrelations- sowie ROC-Analysen wurden, wie vorab erläutert, unter der Zuhilfenahme der in Kapitel 2.5.1 angeführten Formeln bzw. unter Anwendung von SPSS Version 29.0 (IBM, Chicago, Illinois, USA) als auch Microsoft Excel 2021 (Microsoft, Redmond, Washington, USA) vorgenommen.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Beschreibung des Studienkollektivs & der LIA-Testanforderungen

Wie in Abbildung 3 illustriert, erfolgte im Zeitraum von Oktober 2020 bis Oktober 2021 mittels LIA die Testung von insgesamt 1.910 Sera auf das Vorliegen von MAA als auch MSA, so auch auf die Präsenz der beiden für diese Diagnosestudie relevanten Autoantikörper, durch das Personal des Immunologielabors der Universitätsklinik Graz. Die vorab in Kapitel 2.1 erläuterte Aufbereitung der Listendatei, welche die Testresultate der oben angeführten LIA-Testungen enthielt, führte, nach erfolgter Entfernung der Einträge der Zweit- oder Mehrfachtestungen eines Individuums sowie durch die alleinige Berücksichtigung des aktuellsten Testergebnisses und den Ausschluss der Resultate nicht-adulter Individuen, zu einem Stichprobenumfang von 1.733 getesteten Personen (ungekürzte Stichprobe). Die Anforderungen zur Testung jener 1.733 Sera auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*- sowie des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers wurden zu einem überwiegenden Anteil (68.0 %) von rheumatologischen bzw. immunologischen Abteilungen oder Ambulanzen des Hauses sowie externen Zuweisern und Zuweiserinnen gestellt. 2.1 % der Anforderungen gingen von dermatologischen, 2.2 % von pulmologischen sowie 1.4 % von neurologischen Abteilungen des Hauses aus. 23.1 % der LIA-Anforderungen wurden durch externe KAGes-Häuser sowie in Summe 3.2 % durch übrige Fachabteilungen bzw. niedergelassene Ärzte und Ärztinnen gestellt. Die exakte Auflistung der Häufigkeiten der LIA-anfordernden Fachrichtungen bzw. Häuser kann nachfolgender Tabelle 8 entnommen werden.

**Tabelle 8.** Häufigkeiten der Myositisblot-anfordernden Fachrichtungen bzw. Häuser in der ungekürzten Stichprobe.

Fachrichtung bzw. Haus	n	[%]
Andere	17	1.1
Angiologie	11	0.6
Dermatologie	37	2.1
Endokrinologie	2	0.1
Externes Haus	401	23.1
Gastroenterologie	9	0.5
Nephrologie	14	0.8
Neurologie	24	1.4
Onkologie	2	0.1
Pulmologie	38	2.2
Rheumatologie/ Immunologie und externe Zuweiser und Zuweiserinnen	1178	68.0
<b>Gesamt</b>	<b>1733</b>	<b>100.0</b>

LIA zur Detektion etwaig vorhandener *Anti-HMGCR*- sowie *Anti-cNIA*-Autoantikörper in den vorab angeführten 1.733 Sera wurden zu 1.6 % aufgrund einer CK-Elevation, zu 0.8 % aufgrund von Muskelschwäche, zu 7.9 % aufgrund von muskulären Schmerzen sowie zu 13.4 % aufgrund einer bereits diagnostizierten oder suspektierten IIM angefordert. 18.8 % der Testungen erfolgten hinsichtlich einer Differentialdiagnose bzw. zur Abklärung übriger Autoimmunerkrankung, welche nicht den IIM zuzuordnen sind, während 44.6 % der Anforderungsgründe anderen Kategorien entsprechen. 16.4 % der Anforderungen wiesen keine Zuweisungsdiagnose bzw. keinen Anforderungsgrund auf. Die exakte Auflistung der Häufigkeiten der Anforderungsgründe kann Tabelle 9 entnommen werden. Es soll angemerkt werden, dass LIA-Anforderungen zahlreicher Individuen multiple Anforderungsgründe aufweisen.

**Tabelle 9.** Häufigkeiten der LIA-Anforderungsgründe in der ungekürzten Stichprobe (Prozentangaben repräsentieren den relativen Anteil an der Anzahl der Myositisblotanforderungen der ungekürzten Stichprobe).

Anforderungsgrund	n*	[%]
ANA-Erhöhung	3	0.2
Andere	689	39.8
CK-Erhöhung	28	1.6
DDx: AIE außer IIM	326	18.8
DDx: ILD	40	2.3
DDx: RE	16	0.9
Dysphagie	1	0.1
fehlt	284	16.4
LDH-Erhöhung	2	0.1
Muskelschwäche	14	0.8
Myalgie	137	7.9
Myoglobin-Erhöhung	3	0.2
Rhabdomyolyse	7	0.4
Suspizierte oder diagnostizierte IIM	232	13.4
Transaminasen-Erhöhung	11	0.6

*\*Anmerkung.* Individuen können multiple Anforderungsgründe zugewiesen werden.  
ANA, Antinukleärer Antikörper; CK, Creatinkinase; LDH, Laktatdehydrogenase; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; DDx: AIE außer IIM, Differentialdiagnose einer Autoimmunerkrankung, außer einer Idiopathisch inflammatorischen Myopathie; DDx: ILD, Differentialdiagnose einer interstitiellen Lungenerkrankung; DDx: RE, Differentialdiagnose einer anderweitigen rheumatologischen Erkrankung im Allgemeinen bzw. suspekter rheumatischer Beschwerden.

### 3.2 Multiple MSA-Positivitäten vor dem Hintergrund einer Anti-HMGCR- oder Anti-cN1A-Autoantikörperpositivität

In 125 der 1.733 (7.2 %) mittels LIA getesteten Sera der ungekürzten Stichprobe konnte zumindest einer der beiden in der vorliegenden Diplomarbeit berücksichtigten MSA detektiert werden. Hierbei ist anzumerken, dass darunter die Sera von 41 Individuen (32.8 %) isoliert positiv auf *Anti-HMGCR*- bzw. die Sera von 45 Personen (36.0 %) isoliert positiv auf *Anti-cN1A*-Autoantikörper getestet wurden. 19 dieser Sera (15.2 %) wiesen neben einer *Anti-HMGCR*-Antikörperpositivität zudem eine Positivität auf einen oder mehrere MAA bzw. MSA auf, während wiederum 20 Personen (16.0 %) neben einem positiven *Anti-cN1A*-Antikörpertestresultat zudem positiv auf einen oder multiple MSA bzw. MAA getestet wurden. An dieser Stelle gilt es insbesondere zu betonen, dass folglich 13 der in Summe 60 *anti-HMGCR*-positiven Individuen (21.7 %) sowie 9 der insgesamt 65 *anti-cN1A*-positiven Personen (13.8 %) multiple MSA-Positivitäten aufwiesen. Das in diesem Absatz Geschilderte wird nachfolgend in Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10.** Häufigkeiten isoliert *anti-HMGCR*- bzw. *anti-cN1A*- sowie mehrfach MSA/MAA-positiver Individuen in der ungekürzten Stichprobe.

<b>MSA bzw. MSA/MAA Kombination</b>	<b>n</b>	<b>[%]</b>
<i>Anti-HMGCR</i>	41	32.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-Jo-1</i>	2	1.6
<i>Anti-HMGCR + Anti-Ku</i>	2	1.6
<i>Anti-HMGCR + Anti-NXP2</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-PL-7</i>	3	2.4
<i>Anti-HMGCR + Anti-PM/ScI-75</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-PM/ScI-100</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-SRP</i>	2	1.6
<i>Anti-HMGCR + Anti-PM/ScI-75 + Anti-PM/ScI-100</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-PM/ScI-75 + Anti-Ro52</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-PL-7 + Anti-SRP</i>	3	2.4
<i>Anti-HMGCR + Anti-PL-7 + Anti-MDA-5 + Anti-Ro52</i>	1	0.8
<i>Anti-HMGCR + Anti-PL-7 + Anti-SRP + Anti-TIF1<math>\gamma</math></i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A</i>	45	36.0
<i>Anti-cN1A + Anti-Ku</i>	2	1.6
<i>Anti-cN1A + Anti-Mi-2<math>\alpha</math></i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-Mi-2<math>\beta</math></i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-Ro52</i>	7	5.6
<i>Anti-cN1A + Anti-SRP</i>	2	1.6
<i>Anti-cN1A + Anti-TIF1<math>\gamma</math></i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-PL-7 + Anti-PM/ScI-75</i>	2	1.6
<i>Anti-cN1A + Anti-PM/ScI-75 + Anti-PM/ScI-100</i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-PL-12 + Anti-Ro52</i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-PM/ScI-100 + Anti-Ro52</i>	1	0.8
<i>Anti-cN1A + Anti-Ku + Anti-PM/ScI-100 + Anti-SAE</i>	1	0.8
<b>Gesamt</b>	<b>125</b>	<b>100.0</b>

MAA, Myositis-assoziiertes Antikörper; MSA, Myositis-spezifisches Antikörper.

### 3.3 Beschreibung der finalen Stichprobe

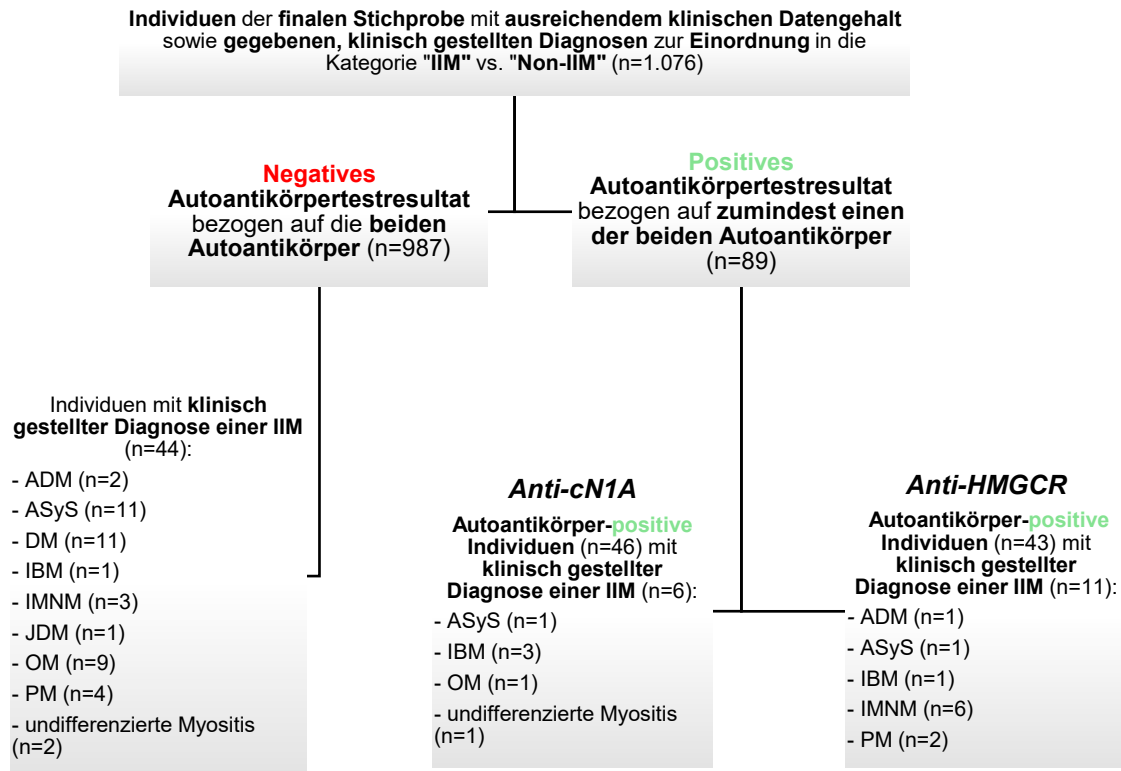
Durch die meinerseits erfolgte, in Kapitel 2.1 beschriebene sowie in Abbildung 3 illustrierte Vorgehensweise bzw. Deletion von 177 Testresultateinträgen aus der Ausgangsliste (n=1.910), welche nicht-adulten Individuen sowie Zweit- oder Mehrfachtestungen zuzuordnen waren, ergab sich jene vorab in Kapitel 3.1 angeführte 1.733 Personen umfassende ungekürzte Stichprobe. Wie bereits in Kapitel 2.1 erläutert, wurde lediglich das aktuellste Testergebnis in der konsekutiv erfolgten retrospektiven Datenanalyse berücksichtigt.

Nach der im Sinne dieser retrospektiven Datenanalyse erfolgten Durchsicht sämtlicher elektronischer Krankenakten des Krankenhausinformationssystems meinerseits, ergab sich daraus, nach erfolgter Entfernung von weiteren 657 Einträgen, welche Individuen mit unzureichend vorhandenem klinischen Datengehalt zur Einordnung in die Gruppe „IIM“ bzw. „Non-IIM“ zuzuordnen waren, final eine 1.076 Individuen umfassende Stichprobe (finale Stichprobe). Auf jener basieren schlussendlich die im Kapitel 3.5 bzw. Kapitel 3.6 dargestellten Berechnungen sowie Kennzahlen zur Bearbeitung bzw. Beantwortung der Hauptforschungsfrage dieser Diplomarbeit.

623 Personen (57.9 %) der finalen Stichprobe konnten dem weiblichen sowie 453 Individuen (42.1 %) dem männlichen Geschlecht zugeordnet werden. Die Geschlechterverteilung in dieser Stichprobe bzw. die Geschlechterverteilung in den Gruppen „IIM“ sowie „Non-IIM“ kann Tabelle 11 entnommen werden. Das mittlere Personalter ( $\pm$  Standardabweichung) betrug in der finalen Stichprobe 57 ( $\pm$  16) Jahre. Tabelle 12 enthält die statistischen Kennzahlen zur Beschreibung der Alters- sowie der, bezogen auf die beiden in dieser Diagnosestudie berücksichtigten MSA, Autoantikörpertiterverteilung in dieser Stichprobe.

Wie in Abbildung 8 illustriert, wurden 89 (8.3 %) der insgesamt 1.076 Individuen positiv auf zumindest einen der beiden für die vorliegende Arbeit relevanten MSA getestet, worunter in Summe 17 Personen (19.1 %) eine für diese Studie den Goldstandard zur Berechnung der Gütekriterien darstellende, durch den behandelnden Arzt oder die behandelnde Ärztin klinisch gestellte und im Krankenhausinformationssystem erfasste bzw. ersichtliche IIM-Diagnose aufwiesen. Von den übrigen 987 Personen (91.7 %) dieser Stichprobe, welche negativ auf den *Anti-HMGCR*- sowie den *Anti-cNIA*-Autoantikörper getestet wurden, wiesen 44 Individuen (4.5 %) eine klinisch gestellte Diagnose einer IIM auf. Darauf basierend erfolgte die Zuordnung jener in Summe 61 Individuen zur Gruppe „IIM“. Abbildung 8 enthält zudem die IIM-Subgruppenverteilung in der finalen Stichprobe. Hervorgehoben werden

kann hier, dass 3 von 6 (50.0 %) *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Personen mit der klinisch gestellten Diagnose einer IIM an einer IBM sowie 6 von 11 (54.5 %) *anti-HMGCR*-Antikörper-positiven Patienten und Patientinnen mit einer solchen Diagnose an einer IMNM erkrankt sind.



**Abbildung 8.** Flussdiagramm zur Darstellung der IIM-Subgruppenverteilung in der finalen Stichprobe. IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; Non-IIM, nicht mit einer Idiopathisch inflammatorischen Myopathie diagnostiziert; ADM, Amyopathische Dermatomyositis; ASyS, Antisynthetasesyndrom; DM, Dermatomyositis; IBM, Einschlusskörperchenmyositis; IMNM, Immunmedierte nekrotisierende Myopathie; JDM, Juvenile Dermatomyositis; OM, Overlap-Myositis; PM, Polymyositis.

**Tabelle 11.** Kreuztabelle zur Darstellung der Geschlechterverteilung in den Gruppen „Non-IIM“ sowie „IIM“ der finalen Stichprobe.

Geschlecht * Diagnose							
Geschlecht		Klinisch gestellte Diagnose einer IIM				Gesamt	
		Non-IIM		IIM			
		n	[%]	n	[%]	n	[%]
	<b>männlich</b>	425	41.9	28	45.9	453	42.1
	<b>weiblich</b>	590	58.1	33	54.1	623	57.9
	<b>Gesamt</b>	1015	100.0	61	100.0	1076	100.0

IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; Non-IIM, nicht mit einer Idiopathisch inflammatorischen Myopathie diagnostiziert.

**Tabelle 12.** Kennzahlen zur Beschreibung der Alters- und Autoantikörpertiterverteilung in der finalen Stichprobe.

	Mittelwert	SD	Min	Max
Alter in Jahren	57	16	18	93
Anti-HMGCR-AK*	4	12	0	145
Anti-cN1A-AK*	3	13	0	129

\*Anmerkung. Antikörperspiegel werden in willkürlichen Einheiten angegeben.  
AK, Autoantikörper; SD, Standardabweichung; Min, Minimum; Max, Maximum.

### 3.4 Erkrankungsspektrum anti-HMGCR- sowie anti-cN1A-Autoantikörper-positiver Individuen

Nachfolgend können Tabelle 13 die absoluten als auch relativen Häufigkeiten ausgewählter klinisch gestellter, dem Krankenhausinformationssystem entnehmbarer Diagnosen, insbesondere die einer IIM, einer Malignomerkrankung, einer ILD sowie einer Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM zuzuordnen ist, in der Gruppe der *anti-HMGCR*- sowie *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Personen der finalen Stichprobe, entnommen werden.

**Tabelle 13.** Häufigkeiten ausgewählter Diagnosen bei Autoantikörper-positiven Individuen der finalen Stichprobe.\*

MSA	Anzahl positiv Getesteter, n	IIM, n [%]	AIE außer IIM, n [%]	Malignomerkrankung, n [%]	ILD, n [%]	Andere, n [%]
<i>Anti-HMGCR</i>	43	11 [25.58]	11 [25.58]	4 [9.30]	3 [6.98]	17 [39.53]
<i>Anti-cN1A</i>	46	6 [13.04]	16 [34.78]	5 [10.87]	0 [0.00]	19 [41.30]

\*Anmerkung. Autoantikörper-positive Individuen können bei nicht-diagnostizierter IIM mehreren Kategorien zugeordnet werden.

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; AIE, Autoimmunerkrankung; ILD, interstitielle Lungenerkrankung; Andere, nicht mit einer IIM, AIE, Malignomerkrankung oder ILD diagnostiziert.

Hervorgehoben werden kann hier, dass 11 der insgesamt 43 (25.6 %) *anti-HMGCR*-Autoantikörper-positiven Personen eine IIM-Diagnose aufweisen, während ebenso 11 jener 43 (25.6 %) Individuen wiederum mit einer anderweitigen Autoimmunerkrankung, welche nicht den IIM zugeordnet wird, diagnostiziert wurden. 4 Personen (9.3 %) dieser Subgruppe weisen die Diagnose einer Malignomerkrankung (Malignes Melanom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom, muskelinvasives Urothelkarzinom) auf, während 3 weitere (7.0 %) an einer ILD erkrankt sind. 17 Personen (39.5 %) dieser Untergruppe können keiner der vorab genannten Kategorien zugeordnet werden. An dieser Stelle soll angemerkt werden, dass *anti-HMGCR*-Autoantikörper-positive Personen, sofern sie nicht die Diagnose einer IIM aufweisen, mehreren Kategorien (Autoimmunerkrankung, außer IIM, ILD, Malignomerkrankung) zugeordnet werden können, während ein Individuum, im Falle der erfolgten Diagnose mit einem der in Abbildung 8 aufgelisteten IIM-Subtypen, lediglich der Kategorie „IIM“ zugeordnet wurde. Demzufolge soll hier angeführt werden, dass ein an einem ASyS erkranktes *anti-HMGCR*-Autoantikörper-positives Individuum, welches im Rahmen dessen ebenso die

Diagnose einer ILD aufweist, lediglich in der Gruppe „IIM“ berücksichtigt wurde. Eine Person dieser Subgruppe erhielt neben der im Krankenhausinformationssystem dokumentierten Diagnose einer axialen Spondylarthritis ebenso die Diagnose eines metastasierten Mammakarzinoms, während zwei weitere Personen zusätzlich zu ihren Malignomerkrankungen (Bronchialkarzinom, muskelinvasives Urothelkarzinom) an einer ILD erkrankt sind, weshalb diese Personen dementsprechend beiden Kategorien zugeordnet wurden.

In der Subgruppe der *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Individuen wurden wiederum 16 der insgesamt 46 Personen (34.8 %) mit einer anderweitigen Autoimmunerkrankung diagnostiziert, wohingegen im Vergleich dazu lediglich 6 Patienten und Patientinnen (13.0 %) eine IIM-Diagnose aufwiesen. 5 Personen (10.9 %) dieser Untergruppe leiden an einer Malignomerkrankung (B-Zell Lymphom, Mycosis fungoides, Bronchialkarzinom, Primäre Myelofibrose, Ovarialkarzinom), während 19 Individuen (41.3 %) keiner der obig genannten Erkrankungskategorien zugeordnet werden konnten.

Basierend auf den in Tabelle 13 dargestellten Resultaten wurde konsekutiv Tabelle 14 erstellt, welcher wiederum die absoluten sowie relativen Häufigkeiten der einzelnen, in den Subgruppen der *anti-HMGCR*- sowie *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Individuen der finalen Stichprobe vertretenen, Autoimmunerkrankungen, welche nicht der Gruppe der IIM angehören, zu entnehmen sind.

**Tabelle 14.** Häufigkeiten angeführter Autoimmunerkrankungen bei Autoantikörper-positiven Individuen der finalen Stichprobe (Prozentangaben repräsentieren den relativen Anteil an der Anzahl positiv getesteter Individuen).\*

MSA	SLE, n [%]	pSjS, n [%]	SSc, n [%]	PMR, n [%]	CLE, n [%]	Psor, n [%]	RA, n [%]	SpA, n [%]	Sar, n [%]	HTH, n [%]	Andere, n [%]
<i>Anti-HMGCR</i>	3 [6.98]	0 [0.00]	0 [0.00]	0 [0.00]	0 [0.00]	1 [2.33]	3 [6.98]	2 [4.65]	1 [2.33]	0 [0.00]	3 [6.98]
<i>Anti-cN1A</i>	5 [10.87]	2 [4.35]	1 [2.17]	1 [2.17]	2 [4.35]	0 [0.00]	1 [2.17]	2 [4.35]	1 [2.17]	2 [4.35]	1 [2.17]

\*Anmerkung. Autoantikörper-positiv Individuen können multiple Diagnosen aufweisen.

MSA; Myositis-spezifischer Antikörper; SLE, Systemischer Lupus erythematodes; pSjS, primäres Sjögren-Syndrom; SSc, Systemische Sklerose; PMR, Polymyalgia rheumatica; CLE, Kutaner Lupus erythematodes; Psor, Psoriasis vulgaris; RA, Rheumatoide Arthritis; SpA, axiale Spondylarthritis; Sar, Sarkoidose; HTH, Hashimoto Thyreoiditis; Andere: Leukozytoklastische Vaskulitis, undifferenzierte Arthritis, Antiphospholipidsyndrom, Alopecia areata.

Auffallend ist hierbei insbesondere, dass in der Subgruppe der *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Patienten und Patientinnen nahezu gleich viele Personen mit einem SLE bzw. mit einer IIM (5 vs. 6  $\hat{=}$  10.9 % vs. 13.0 %) diagnostiziert wurden. Hier gilt es anzumerken, dass Patienten und Patientinnen multiple, in Tabelle 14 angeführte Diagnosen zugleich aufweisen

können, worauf basierend die entsprechenden Individuen mehreren Kategorien zugeordnet wurden. Lediglich eine *anti-cN1A*-Autoantikörper-positive Person wurde in Tabelle 13 nicht in der Gruppe „Autoimmunerkrankung außer IIM“, sondern aufgrund der klinisch gestellten Diagnose einer OM ausschließlich in der Gruppe „IIM“ berücksichtigt, wobei hier angeführt werden kann, dass jenes Individuum neben der klinisch gestellten Diagnose einer Myositis ebenso die eines SLE sowie die einer Psoriasis vulgaris aufweist, welches jedoch demzufolge nicht in Tabelle 14 berücksichtigt wurde.

Zusammenfassend für dieses Unterkapitel soll demnach insbesondere festgehalten werden, dass in Summe ein größerer Anteil der insgesamt 89 mittels LIA positiv auf zumindest einen der beiden in dieser Diagnosestudie berücksichtigten MSA getesteten Individuen die Diagnose einer Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM angehört, als die einer IIM aufweist (27 vs. 17  $\hat{=}$  30.3 % vs. 19.1 %).

### 3.5 Validität definierende Kennzahlen, Vorhersagewerte & LQ der mittels LIA detektierten MSA

Nachfolgend können Tabelle 15 und Tabelle 16, welche ihrerseits Vierfeldertafeln darstellen, getrennt für die beiden in der vorliegenden Diplomarbeit berücksichtigten MSA, die Anzahl der korrekt als auch inkorrekt positiven sowie die Anzahl der korrekt als auch inkorrekt negativen LIA-Testergebnisse, welche wiederum die Grundlage für den Erhalt jener in Tabelle 17 ersichtlichen Werte darstellen, entnommen werden.

Vor dem Hintergrund der zuvor in Kapitel 1.6.4 geschilderten bzw. durch Infantino et al. (68) aufgezeigten Problematik bezüglich der mangelnden klinischen Spezifität der untersuchten MSA-Nachweismethode, soll hier angeführt werden, dass 983 von insgesamt 1.015 Personen (96.8 %) der finalen Stichprobe, die ihrerseits keine klinisch gestellte Diagnose einer IIM aufweisen, dem LIA-Testresultat zufolge korrekterweise keine *Anti-HMGCR*-Autoantikörperpositivität aufweisen (68). 11 der in Summe 61 Patienten und Patientinnen (18.0 %) der finalen Stichprobe, die an einem Subtyp der IIM erkrankt sind, weisen wiederum eine solche *Anti-HMGCR*-Autoantikörperpositivität auf. Ebenso festgehalten werden soll, dass 11 von insgesamt 43 Personen (25.6 %), welche mittels LIA positiv auf jenen MSA getestet wurden, den Ergebnissen der retrospektiven Datenanalyse zufolge, auch tatsächlich an einer IIM erkrankt sind. Umgekehrt wiederum weisen 32 Personen dieser Gruppe (74.4 %) keine solche Diagnose auf.

**Tabelle 15: Eine die Entscheidungen des *Anti-HMGCR*-LIA-Testverfahrens sowie die entsprechenden absoluten Häufigkeiten darstellende Vierfeldertafel.**

LIA-Testergebnis	Klinisch „Non-IIM“ (Goldstandard)	Klinisch „IIM“ (Goldstandard)	Summe
negatives <i>Anti-HMGCR</i> -Testergebnis („Non-IIM“)	983 (korrekt negative Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	50 (inkorrekt negative Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	1033 (in absoluten Häufigkeiten)
positives <i>Anti-HMGCR</i> -Testergebnis („IIM“)	32 (inkorrekt positive Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	11 (korrekt positive Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	43 (in absoluten Häufigkeiten)
<b>Summe</b>	1015 (in absoluten Häufigkeiten)	61 (in absoluten Häufigkeiten)	<b>1076</b> (in absoluten Häufigkeiten)

Tabelle 16 demonstriert, dass 975 von 1.015 (96.1 %) nicht an einem Subtyp der IIM erkrankten Individuen mittels untersuchtem LIA korrekterweise negativ auf das Vorliegen des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers getestet wurden. 6 der insgesamt 61 (9.8 %) IIM-Patienten und

Patientinnen weisen wiederum korrekterweise eine *Anti-cN1A*-Autoantikörperpositivität auf. Anders formuliert kann betont werden, dass 6 der in Summe 46 (13.0 %) *anti-cN1A*-Autoantikörper-positiven Personen an einer IIM erkrankt sind, während 40 Personen (87.0 %) dieser Subgruppe, basierend auf den im Krankenhausinformationssystem ersichtlichen klinischen Daten, nicht der Gruppe „IIM“ zugeordnet werden konnten.

**Tabelle 16:** Eine die Entscheidungen des *Anti-cN1A*-LIA-Testverfahrens sowie die entsprechenden absoluten Häufigkeiten darstellende Vierfeldertafel.

LIA-Testergebnis	Klinisch „Non-IIM“ (Goldstandard)	Klinisch „IIM“ (Goldstandard)	Summe
negatives <i>Anti-cN1A</i> -Testergebnis („Non-IIM“)	975 (korrekt negative Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	55 (inkorrekt negative Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	1030 (in absoluten Häufigkeiten)
positives <i>Anti-cN1A</i> -Testergebnis („IIM“)	40 (inkorrekt positive Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	6 (korrekt positive Ergebnisse in absoluten Häufigkeiten)	46 (in absoluten Häufigkeiten)
<b>Summe</b>	1015 (in absoluten Häufigkeiten)	61 (in absoluten Häufigkeiten)	<b>1076</b> (in absoluten Häufigkeiten)

Die exakten die Validität definierenden Kennzahlen und Vorhersagewerte mitsamt ihrer 95%-Konfidenzintervalle sowie die LQ der beiden mittels LIA detektierten MSA, welche allesamt wiederum der Beantwortung der zentralen Forschungsfrage der vorliegenden Diagnosestudie dienen, können Tabelle 17 entnommen werden.

**Tabelle 17.** Kennzahlen des mittels LIA detektierten *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IIM.

MSA	Anzahl negativ Getesteter, n	Anzahl positiv Getesteter, n	IIM-Diagnose					
			klinische Sensitivität, [%] (95% KI)	klinische Spezifität, [%] (95% KI)	PPV, [%] (95% KI)	NPV, [%] (95% KI)	positiver LQ	negativer LQ
<i>Anti-HMGCR</i>	1033	43	<b>18.03</b> (.098,.289)	<b>96.85</b> (.957,.978)	<b>25.58</b> (.142,.398)	<b>95.16</b> (.937,.964)	<b>5.72</b>	<b>0.85</b>
<i>Anti-cN1A</i>	1030	46	<b>9.84</b> (.040,.189)	<b>96.06</b> (.947,.971)	<b>13.04</b> (.054,.247)	<b>94.66</b> (.932,.959)	<b>2.50</b>	<b>0.94</b>

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; PPV, Positiver prädiktiver Wert; NPV, Negativer prädiktiver Wert; LQ, Likelihood-Quotient; KI, Konfidenzintervall.

Der nachfolgenden Tabelle 18 können zudem die die Validität definierenden Kennzahlen, die LQ sowie die Vorhersagewerte des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers für das tatsächliche Vorliegen einer IMNM entnommen werden.

**Tabelle 18.** Kennzahlen des mittels LIA detektierten *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IMNM.

MSA	Anzahl negativ Getesteter, n	Anzahl positiv Getesteter, n	IMNM-Diagnose					
			klinische Sensitivität, [%] (95% KI)	klinische Spezifität, [%] (95% KI)	PPV, [%] (95% KI)	NPV, [%] (95% KI)	positiver LQ	negativer LQ
<i>Anti-HMGCR</i>	1033	43	<b>66.67</b> (.345,.905)	<b>96.53</b> (.953,.975)	<b>13.95</b> (.058,.263)	<b>99.71</b> (.992,.999)	<b>19.21</b>	<b>0.35</b>

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; IMNM, Immunmedierte nekrotisierende Myopathie; PPV, Positiver prädiktiver Wert; NPV, Negativer prädiktiver Wert; LQ, Likelihood-Quotient; KI, Konfidenzintervall.

In Tabelle 19 sind wiederum die oben angeführten Werte des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers für das tatsächliche Vorliegen einer IBM zusammengefasst.

**Tabelle 19.** Kennzahlen des mittels LIA detektierten *Anti-cN1A*-Autoantikörpers zur Ermittlung des entsprechenden diagnostischen Stellenwertes sowie zur Beurteilung der jeweiligen Utilität bezogen auf die Diagnosestellung einer IBM.

MSA	Anzahl negativ Getesteter, n	Anzahl positiv Getesteter, n	IBM-Diagnose					
			klinische Sensitivität, [%] (95% KI)	klinische Spezifität, [%] (95% KI)	PPV, [%] (95% KI)	NPV, [%] (95% KI)	positiver LQ	negativer LQ
<i>Anti-cN1A</i>	1030	46	<b>60.00</b> (.199,.919)	<b>95.99</b> (.947,.971)	<b>6.52</b> (.017,.160)	<b>99.81</b> (.994,1.000)	<b>14.96</b>	<b>0.42</b>

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; IBM, Einschlusskörperchenmyositis; PPV, Positiver prädiktiver Wert; NPV, Negativer prädiktiver Wert; LQ, Likelihood-Quotient; KI, Konfidenzintervall.

### 3.6 PPV des Anti-HMGCR- bzw. Anti-cN1A-Autoantikörpers für das Vorliegen einer anderweitigen Autoimmun- bzw. Malignomerkrankung

Wie der nachstehenden Tabelle 20 entnommen werden kann, wiesen insgesamt 27 der 89 (30.3 %) Personen, die positiv auf mindestens einen der beiden in der Diplomarbeit berücksichtigten MSA getestet wurden, zumindest eine der zuvor in Tabelle 14 aufgelisteten, anderweitigen Autoimmunerkrankungen bzw. in Summe 9 (10.1 %) Individuen dieser Subgruppe eine Malignomerkrankung (n=1 zusätzlicher mit einer Autoimmunerkrankung diagnostiziert, welche nicht den IIM zugeordnet wird; n=2 zusätzlich mit einerILD diagnostiziert; n=6 ohne zusätzliche Diagnose einer IIM, einer anderweitigen Autoimmunerkrankung oder einerILD) auf.

Überraschenderweise wiesen, im Vergleich zu dem vorab in Tabelle 17 dargestellten PPV des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers für das Vorliegen einer IIM, ebenso 11 der insgesamt 43 (25.6 %) Personen der finalen Stichprobe, die positiv auf jenen MSA getestet wurden, eine klinisch gestellte Diagnose einer Autoimmunerkrankung, die jedoch nicht der Gruppe der IIM angehört, auf. Ebenso hervorgehoben werden soll an dieser Stelle, dass 16 der in Summe 46 (34.8 %) Individuen, welche ihrerseits positiv auf das Vorliegen des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers getestet wurden, die Diagnose einer anderweitigen Autoimmunerkrankung aufwiesen. Wie zuvor in Tabelle 13 ersichtlich, erhielten jedoch lediglich 6 (13.0 %) Patienten und Patientinnen dieser Subgruppe die klinisch gestellte Diagnose einer IIM.

4 von 43 (9.3 %) *anti-HMGCR*-positiven Personen bzw. 5 von 46 (10.9 %) *anti-cN1A*-positiven Patienten und Patientinnen wurden mit einer der in Kapitel 3.4 angeführten Malignomerkrankungen diagnostiziert. Das in den bisherigen Absätzen dieses Unterkapitels Geschilderte ist nachfolgend zusammengefasst, mitsamt den entsprechenden 95%-Konfidenzintervallen, in Tabelle 20 ersichtlich.

**Tabelle 20.** Positive prädiktive Werte des *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Autoantikörpers im Kontext der klinisch gestellten Diagnose einer Malignom- bzw. Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM zuzuordnen ist.

MSA	AIE außer IIM (n=27)		Malignomerkrankung (n=9)	
	n	PPV, [%] (95% KI)	N	PPV, [%] (95% KI)
<i>Anti-HMGCR</i>	11	25.58 (.142,.398)	4	9.30 (.030,.203)
<i>Anti-cN1A</i>	16	34.78 (.221,.491)	5	10.87 (.040,.219)

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie; AIE, Autoimmunerkrankung; PPV, Positiver prädiktiver Wert; KI, Konfidenzintervall.

Die in Unterkapitel 1.5.2 geschilderten Ergebnisse einer von Herbert et al. (46) veröffentlichten Arbeit sowie die in Tabelle 14 ersichtlichen Häufigkeiten berücksichtigend wurden konsekutiv ebenso die PPV des mittels LIA nachgewiesenen *Anti-cN1A*-Autoantikörpers für das tatsächliche Vorliegen eines SLE bzw. eines primären SjS berechnet. Die entsprechenden Vorhersagewerte sowie die dazugehörigen 95%-Konfidenzintervalle sind Tabelle 21 zu entnehmen.

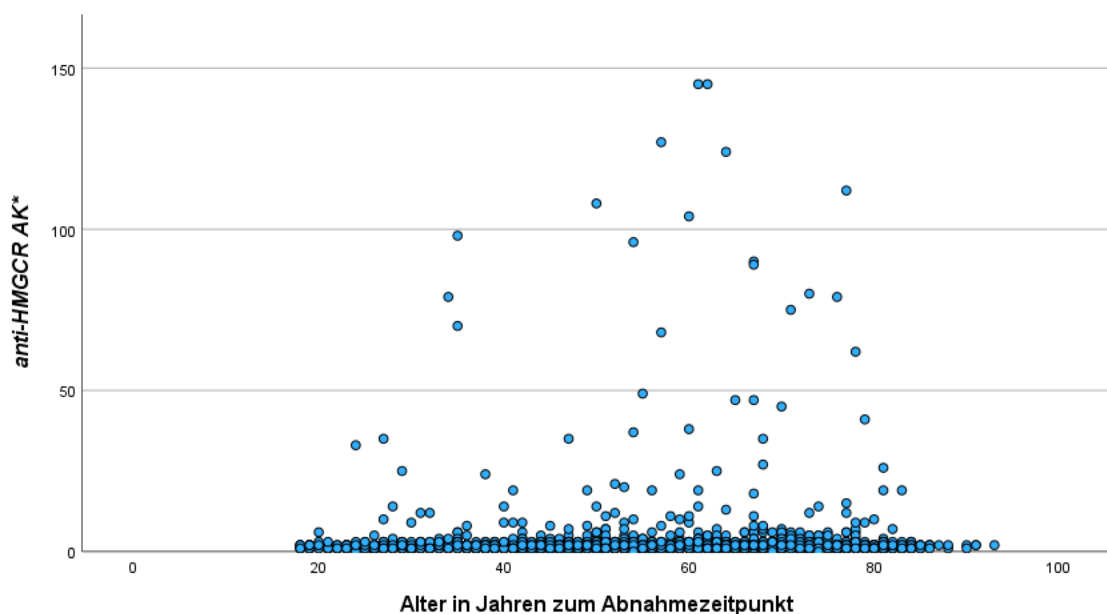
**Tabelle 21.** Positive prädiktive Werte des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers im Kontext der klinisch gestellten Diagnose eines SLE bzw. eines primären SjS.

MSA	SLE		pSjS	
	n	PPV, [%] (95% KI)	n	PPV, [%] (95% KI)
<i>Anti-cN1A</i>	5	10.87 (.040,.219)	2	4.35 (.007,.128)

MSA, Myositis-spezifischer Antikörper; SLE, Systemischer Lupus erythematodes; pSjS, primäres Sjögren-Syndrom, PPV, Positiver prädiktiver Wert.

### 3.7 Korrelationen zwischen dem Personenalter & den MSA-Titerhöhen

Folgend werden in Tabelle 22 sowie in Tabelle 23 die Resultate der, zum Zwecke der Demonstration einer etwaig vorhandenen statistisch signifikanten Beziehung zwischen den Variablen „Personenalter in Jahren“ sowie „*Anti-HMGCR*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ bzw. „*Anti-cN1A*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ durchgeführten, Korrelationsanalysen dargestellt. An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass hierzu die LIA-Testergebnisse der 1.733 Individuen umfassenden Stichprobe (ungekürzte Stichprobe) sowie deren Alter in Jahren als Testvariablen herangezogen wurden.



**Abbildung 9.** Streudiagramm zur Darstellung eines Zusammenhangs zwischen dem Personenalter und der *Anti-HMGCR*-Titerhöhe.

\*Anmerkung. Antikörperspiegel werden in willkürlichen Einheiten angegeben.

Dem in Abbildung 9 dargestellten Streudiagramm ist bereits visuell zu entnehmen, dass zwischen den Variablen „Personenalter in Jahren“ und „*Anti-HMGCR*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ in der untersuchten Stichprobe kein linearer Zusammenhang besteht.

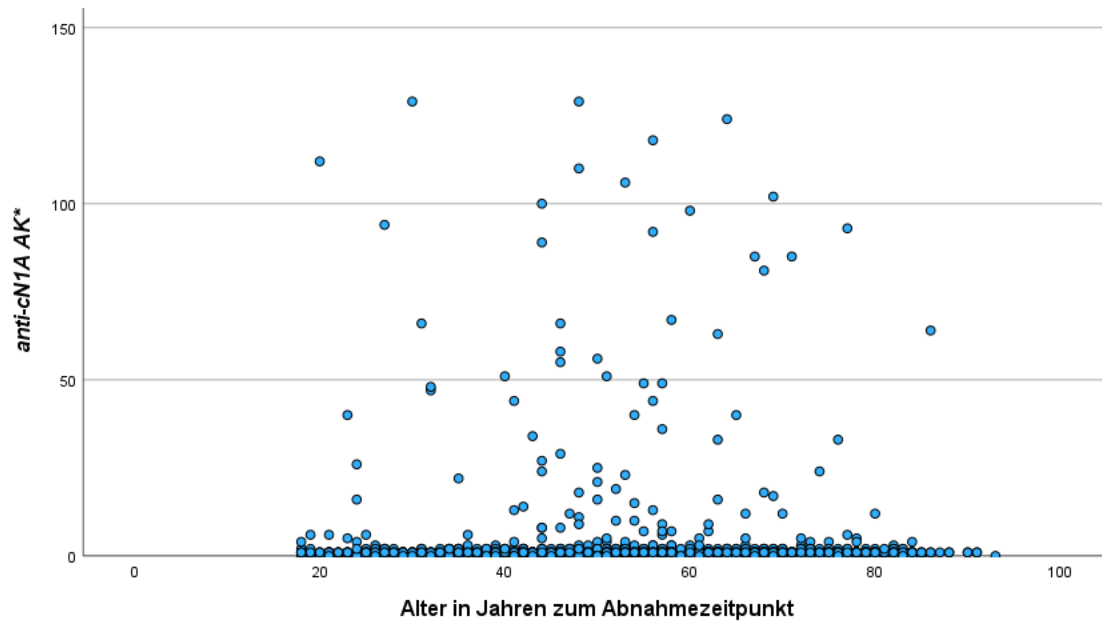
**Tabelle 22.** Korrelationsanalyse zur Detektion eines statistisch signifikanten Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der *Anti-HMGCR*-Titerhöhe in der ungekürzten Stichprobe.

Korrelationen				
			Alter in Jahren zum Abnahmezeitpunkt	Anti-HMGCR- AK
Spearman-Rho	Alter in Jahren zum Abnahmezeitpunkt	Korrelationskoeffizient	1.000	.001
		Sig. (2-seitig)*	.	.958
		n	1733	1733
	Anti-HMGCR- AK	Korrelationskoeffizient	.001	1.000
		Sig. (2-seitig)*	.958	.
		n	1733	1733

\*Anmerkung: Eine Korrelation wäre ab einem Niveau von unter 0,01 statistisch signifikant.  
AK, Autoantikörper; Sig., Signifikanzniveau.

Nach der konsekutiv durchgeführten Prüfung der Verteilungseigenschaften der beiden Variablen in der untersuchten Stichprobe erfolgte schlussendlich die Kalkulation des Spearman-Korrelationskoeffizienten sowie des entsprechenden  $p$ -Wertes, welcher schließlich zeigte, dass zwischen den beiden in dieser Korrelationsanalyse untersuchten Merkmalen, wie in Tabelle 22 ersichtlich, kein statistisch signifikanter Zusammenhang besteht.

Auf die gleiche Weise ist dem folgend in Abbildung 10 gezeigten Streudiagramm zu entnehmen, dass zwischen den beiden Merkmalen „Personenalter in Jahren“ und „*Anti-cNIA*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ in dieser ungekürzten Stichprobe ebenso kein linearer Zusammenhang besteht.



**Abbildung 10.** Streudiagramm zur Darstellung eines Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der *Anti-cN1A*-Titerhöhe.

\*Anmerkung. Antikörperspiegel werden in willkürlichen Einheiten angegeben.

Die nachfolgend in Tabelle 23 ersichtlichen Resultate der entsprechenden Korrelationsanalyse demonstrieren jedoch das Vorhandensein eines sehr schwachen, negativen, statistisch signifikanten ( $r_s = -.069$ ,  $p < 0.01$ ), monotonen Zusammenhanges zwischen den Variablen „Personenalter in Jahren“ bzw. „*Anti-cN1A*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ in dieser Stichprobe.

**Tabelle 23.** Korrelationsanalyse zur Detektion eines statistisch signifikanten Zusammenhanges zwischen dem Personenalter und der *Anti-cN1A*-Titerhöhe in der ungekürzten Stichprobe.

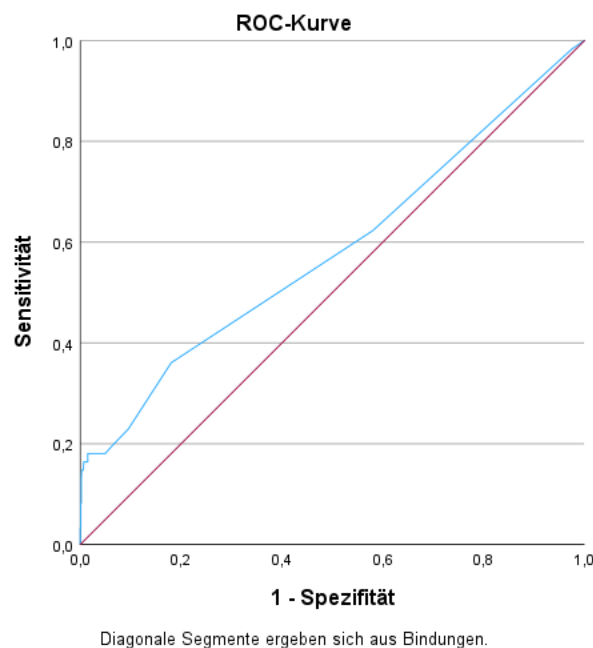
Korrelationen				
			Alter in Jahren zum Abnahmezeitpunkt	<i>Anti-cN1A</i> - AK
Spearman-Rho	Alter in Jahren zum Abnahmezeitpunkt	Korrelationskoeffizient	1.000	-.069
		Sig. (2-seitig)*	.	.004
		n	1733	1733
	<i>Anti-cN1A</i> - AK	Korrelationskoeffizient	-.069	1.000
		Sig. (2-seitig)*	.004	.
		n	1733	1733

\*Anmerkung. Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau statistisch signifikant (zweiseitig).  
AK, Autoantikörper; Sig., Signifikanzniveau.

### 3.8 ROC-Analysen zur Identifikation spezifischerer Schwellenwerte

Wie vorab in Unterkapitel 2.5.3 erwähnt, wurden im Sinne einer Ergänzung zu der von Lackner et al. (69) publizierten, hauseigenen Vorläuferstudie ebenso im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit ROC-Analysen durchgeführt, um nun auch bezogen auf diese beiden untersuchten MSA spezifischere Schwellenwerte zu identifizieren (69).

Abbildung 11 zeigt dabei jene zu Tabelle 24 zugehörige ROC-Kurve, wobei die entsprechende Fläche unter der Kurve (AUC) 0.581 beträgt.



**Abbildung 11.** Basierend auf den testcharakterisierenden Kennzahlen ausgewählter *Anti-HMGCR*-Autoantikörper titer erstellte ROC-Kurve.  
ROC, Receiver Operating Characteristic.

Den nachfolgend in Tabelle 24 ersichtlichen testcharakterisierenden Kennzahlen sowie den entsprechenden Youden-Indices zufolge, kann betont werden, dass für die Definition einer *Anti-HMGCR*-Autoantikörperpositivität, im Gegensatz zu dem vom LIA-Hersteller (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) empfohlenen Cut-off-Wert ( $= >10$  willkürliche Einheiten) ein Schwellenwert von  $>19$  willkürlichen Einheiten zu wählen sei, um bei gleichbleibender Sensitivität (18,0 %) eine höhere klinische Spezifität (96,8 % vs. 98,5 %) erzielen zu können. Die Anzahl inkorrekt positiver *Anti-HMGCR*-Testergebnisse kann dadurch, den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge, von 32 auf 15 gesenkt werden. Der PPV des Autoantikörpers für das tatsächliche Vorliegen einer IIM erhöht sich demzufolge ebenso (25,6 % vs. 42,3 %).

**Tabelle 24.** ROC-Analyse zur Identifikation spezifischerer *Anti-HMGCR*-Cut-off-Werte bezüglich des Vorliegens einer IIM.

Koordinaten der ROC-Kurve			
Variable für Testergebnis: <i>Anti-HMGCR</i> -AK			
Positiv, wenn größer oder gleich	Sensitivität	1 - Spezifität	Youden-Index*
-1.00	1.000	1.000	.000
.50	.984	.975	.009
1.50	.623	.580	.043
2.50	.361	.180	.181
3.50	.230	.096	.134
4.50	.213	.080	.133
5.50	.197	.064	.133
6.50	.180	.049	.131
7.50	.180	.041	.139
8.50	.180	.039	.141
9.50	.180	.033	.147
10.50	.180	.032	.148
11.50	.180	.030	.150
12.50	.180	.026	.154
13.50	.180	.025	.155
16.00	.180	.021	.159
18.50	.180	.020	.160
19.50	.180	.015	.165
20.50	.164	.015	.149
22.50	.164	.014	.150
29.50	.164	.012	.152
36.00	.164	.010	.154
37.50	.164	.009	.155
39.50	.164	.008	.156
44.00	.164	.007	.157
54.50	.148	.006	.142
65.00	.148	.005	.143
69.00	.148	.004	.144
74.50	.148	.003	.145
79.50	.131	.002	.129
84.50	.115	.002	.113
89.50	.098	.002	.096
94.00	.082	.002	.080
101.00	.082	.001	.081
106.00	.066	.001	.065

110.00	.049	.001	.048
119.50	.033	.001	.032
136.00	.033	.000	.033
146.00	.000	.000	.000

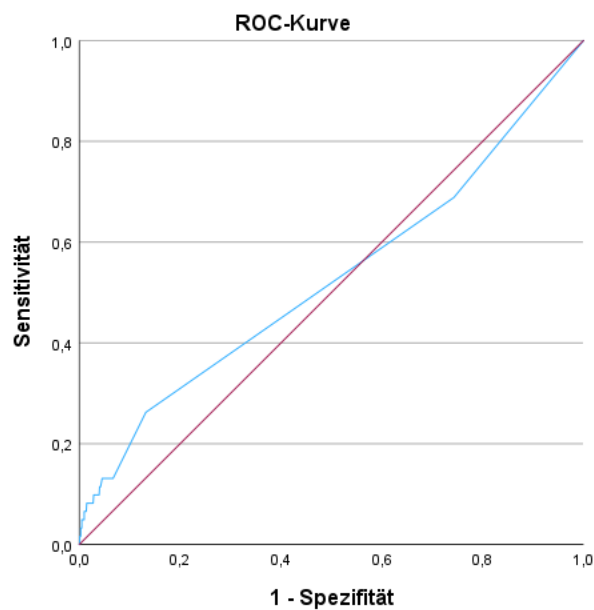
*Anmerkung.* Bei der Variable für das Testergebnis: *Anti-HMGCR-AK* liegt mindestens eine Bindung zwischen der positiven und der negativen Ist-Zustandsgruppe vor. In der gelb markierten Zeile sind der von Seiten des Herstellers (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) empfohlene Cut-off-Wert, die Kennzahlen des entsprechenden *Anti-HMGCR*-Autoantikörper-titers für die Diagnose einer IIM sowie der daraus berechnete Youden-Index abgebildet.

In der grün markierten Zeile ist der gemäß dem Youden-Index optimalste Cut-off-Wert, bei gleichbleibender diagnostischer Sensitivität jedoch höherer diagnostischer Spezifität, abgebildet.

\**Anmerkung.* Der optimalste Cut-off-Wert wird durch den höchsten Youden-Index angezeigt.

AK, Autoantikörper; ROC, Receiver Operating Characteristic; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie.

Abbildung 12 illustriert jene zu Tabelle 25 zugehörige ROC-Kurve. Die entsprechende AUC beträgt dabei 0.527.



Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

**Abbildung 12.** Basierend auf den testcharakterisierenden Kennzahlen ausgewählter *Anti-cN1A*-Autoantikörper-titer erstellte ROC-Kurve. ROC, Receiver Operating Characteristic.

Basierend auf den folgend in Tabelle 25 dargestellten Werten kann festgehalten werden, dass, um bei gleichbleibender Sensitivität des MSA (9.8 %) gleichzeitig eine höhere klinische Spezifität (96.1 % vs. 97.1 %) zu erreichen, im Gegensatz zu dem vom Hersteller (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) empfohlenen Schwellenwert (= >10 willkürliche Einheiten) ein Schwellenwert von >17 willkürlichen Einheiten für die Definition einer *Anti-cN1A*-Autoantikörperpositivität zu wählen sei. Dadurch kann in der finalen Stichprobe der Diplo-

marbeit die Anzahl inkorrekt positiver *Anti-cN1A*-Testresultate von 40 auf 29 gesenkt werden. Folglich erhöht sich zudem der PPV des MSA für das tatsächliche Vorliegen einer IIM-Diagnose (13.0 % vs. 17.1 %).

Eine Erhöhung des PPV des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers (13.0 % vs. 20.0 %) konnte darüber hinaus ebenso durch die folgende Vorgehensweise bzw. Befundinterpretation erzielt werden: Ein Testergebnis wurde erst dann als *anti-cN1A*-positiv gewertet, sofern sowohl *Anti-cN1A*-Autoantikörper als auch *Anti-Ro*-Autoantikörper (5/46) zugleich im Serum detektiert wurden. Lediglich ein Individuum dieser Subgruppe (1/5) wies dabei die klinisch gestellte Diagnose einer IIM (ASyS) auf. Die 4 übrigen Personen dieser Gruppe wurden hingegen mit einer anderweitigen Autoimmun- bzw. Malignomerkrankung diagnostiziert (n=2 SLE; n=1 Bronchialkarzinom; n=1 Ovarialkarzinom).

**Tabelle 25.** ROC-Analyse zur Identifikation spezifischerer *Anti-cN1A*-Cut-off-Werte bezüglich des Vorliegens einer IIM.

Koordinaten der ROC-Kurve			
Variable für Testergebnis: <i>Anti-cN1A</i> -AK			
Positiv, wenn größer oder gleich	Sensitivität	1 - Spezifität	Youden-Index*
-1.00	1.000	1.000	.000
.50	.689	.743	-.054
1.50	.262	.132	.130
2.50	.131	.067	.064
3.50	.131	.058	.073
4.50	.131	.052	.079
5.50	.131	.048	.083
6.50	.131	.045	.086
7.50	.115	.042	.073
8.50	.115	.040	.075
10.50	.098	.039	.059
12.50	.098	.035	.063
13.50	.098	.034	.064
14.50	.098	.033	.065
15.50	.098	.033	.065
16.50	.098	.030	.068
17.50	.098	.029	.069
20.00	.082	.028	.054
23.00	.082	.027	.055

24.50	.082	.026	.056
25.50	.082	.025	.057
26.50	.082	.024	.058
28.00	.082	.023	.059
31.00	.082	.022	.060
34.50	.082	.020	.062
38.00	.082	.019	.063
43.50	.082	.018	.064
47.50	.082	.017	.065
48.50	.082	.016	.066
50.00	.082	.015	.067
53.00	.066	.014	.052
55.50	.066	.013	.053
57.00	.066	.012	.054
60.50	.066	.011	.055
63.50	.066	.010	.056
74.50	.049	.010	.039
87.00	.049	.008	.041
91.00	.049	.007	.042
93.50	.049	.006	.043
96.00	.049	.005	.044
99.00	.033	.005	.028
101.00	.033	.004	.029
104.00	.033	.003	.030
108.00	.016	.003	.013
111.00	.016	.002	.014
115.00	.016	.001	.015
123.50	.000	.001	-.001
130.00	.000	.000	.000

*Anmerkung.* Bei der Variable für das Testergebnis: *Anti-cN1A-AK* liegt mindestens eine Bindung zwischen der positiven und der negativen Ist-Zustandsgruppe vor.

In der gelb markierten Zeile sind der von Seiten des Herstellers (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) empfohlene Cut-off-Wert, die Kennzahlen des entsprechenden *Anti-cN1A*-Autoantikörpertiters für die Diagnose einer IIM sowie der daraus berechnete Youden-Index abgebildet.

In der blau markierten Zeile sind der gemäß dem Youden-Index optimalste Cut-off-Wert sowie die entsprechenden Kennzahlen für die Diagnose einer IIM abgebildet.

In der grün markierten Zeile ist jener *Anti-cN1A*-Cut-off-Wert abgebildet, welcher bei gleichbleibender diagnostischer Sensitivität eine höhere diagnostische Spezifität als der von Seiten des Herstellers (Euroimmun, Lübeck, Deutschland) empfohlene Cut-off-Wert aufweist.

\**Anmerkung.* Der optimalste Cut-off-Wert wird durch den höchsten Youden-Index angezeigt.

AK, Autoantikörper; ROC, Receiver Operating Characteristic; IIM, Idiopathisch inflammatorische Myopathie.

## 4 Diskussion

### 4.1 Die Art der Anwendung des MSA-Screenings mittels LIA im Klinikalltag

Die im klinischen Alltag genutzten Elemente der IIM-Diagnostik, zu welchen beispielsweise bildgebende Verfahren, neurophysiologische Diagnostikmethoden, die Skelettmuskelbiopsie zur histopathologischen Befundung, die Bestimmung der Serumkonzentrationen der Muskelenzyme sowie die Symptomerfassung im Zuge der Anamneseerhebung und klinischen Untersuchung zählen, sind entweder durch ihre Invasivität oder eine geringe diagnostische Spezifität gekennzeichnet (3,4,18). Mit der Entdeckung zahlreicher MSA hingegen, welche sich entsprechend ihrer Bezeichnung als solche bzw. gemäß dem aktuellen Stand der Forschung primär durch ihre hohe Spezifität für die Erkrankungsgruppe der IIM auszeichnen sowie der konsekutiv erfolgten Entwicklung multipler kommerziell verfügbarer Single- als auch Multiplex-Immunoassays, welche zudem simpel in ihrer Anwendung und folglich alltäglich in Routinelaboratorien zur Detektion jener durchführbar sind, scheint jedoch ein neuer, potenziell bedeutsamerer Baustein des IIM-Diagnostikprozesses entstanden zu sein (1,15,18,68).

Zumal insbesondere die Entnahme einer Skelettmuskelprobe zur anschließenden histopathologischen Befundung, was bis dato den Goldstandard zur Bestätigung einer potenziellen IIM-Diagnose darstellt, durch ihre, wie oben angeführt, Invasivität charakterisiert ist, können dem Pool an wissenschaftlicher Literatur zu diesem Forschungsgebiet Arbeiten, wie jene von McHugh et al. (18) verfasste Publikation, entnommen werden, deren darin verschriftlichte Theorien besagen, dass einem derartigen MSA-Screening demnach künftig vermutlich die Rolle des primären Diagnostiktools zugewiesen werden und jenes somit möglicherweise der Ablöse dieser invasiven Diagnostikmethode dienen könne (9,18).

Obgleich an dieser Stelle klar betont werden muss, dass es sich hierbei ausschließlich um eine Theorie handelt und es die Forschung bis dato prinzipiell nicht vermochte, konsensbasierte, formelle Diagnostikkriterien für das Erkrankungsbild der IIM hervorzubringen, verleiten möglicherweise insbesondere die Einfachheit der Anwendung dieser kommerziell verfügbaren Immunoassays sowie jene in der Literatur beschriebene hohe Spezifität dieser Autoantikörper für die Gruppe der IIM Kliniker und Klinikerinnen im Alltag potenziell dazu, dem MSA-Screening, so auch dem Screening auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Antikörpers bzw. den daraus hervorgehenden Testergebnissen, neben der in Kapitel

1.3 angeführten prognostischen sowie erkrankungssubgruppenbildenden Relevanz und Funktion dieser Antikörper bzw. dieser Testresultate, einen hohen, primär vor allem diagnostischen Stellenwert zu verleihen (1,4,18,68), was unseres Erachtens schließlich in der Anwendung des MSA-Screenings, im klinischen Alltag, insbesondere bei Vorhandensein lediglich unspezifischer Beschwerden bzw. im Kontext einer suspizierten, noch nicht diagnostizierten IIM, resultiert. Die diesbezüglichen Resultate unserer retrospektiven Datenanalyse zeigen, im Einklang dazu sowie im Konsens mit den Ergebnissen der durch Lackner et al. (69) publizierten, hauseigenen Vorläuferstudie, dass in der alltäglichen klinischen Praxis primär die Präsenz von IIM-unspezifischen Symptomen, wie beispielsweise einer CK-, LDH-, Myoglobin-, ANA-, oder Transaminasen-Elevation sowie das Vorliegen von muskulären Schmerzen, Schluckbeschwerden, einer muskulären Schwäche und weiteren unspezifischen Beschwerden, einen Großteil (51.7 %) der MSA/MAA-LIA-Testanforderungsgründe ausmacht. Während der vorliegende Verdacht auf eine anderweitige Autoimmun- bzw. rheumatologische Erkrankung ebenso einen in Summe häufigen Testanforderungsgrund (19.7 %) darstellt, erfolgte ein MSA-Screening mittels LIA, so auch die Testung der Serumproben auf das Vorhandensein der beiden in der vorliegenden Diagnosestudie untersuchten MSA, aufgrund einer konkret suspizierten oder bereits diagnostizierten IIM insgesamt deutlich seltener (13.4 %). Obgleich die Sera einer großen Anzahl an Individuen (n=1.076), – welche wiederum vergleichbar mit der von Lackner et al. (69) angeführten Anzahl an LIA-Testungen (n=1.118) ist, – auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*- bzw. des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers gescreent wurden, wiesen schlussendlich lediglich 61 Personen dieser finalen Stichprobe eine klinisch gestellte IIM-Diagnose auf, was ebenso unsere Annahme untermauert, dass auch das *Anti-HMGCR*- bzw. das *Anti-cNIA*-Screening mittels LIA im klinischen Alltag primär als diagnostisches Element, vor allem im Kontext krankheitsunspezifischer Beschwerden, im Sinne eines Suchtests, genutzt wird. Die Art des Zustandekommens der Real-Life-Kohorte der von Porcelli et al. (70) publizierten italienischen sowie jener von Loarce-Martos et al. (74) veröffentlichten spanischen Arbeit deutet zudem darauf hin, dass eine derartige Nutzung des MSA-Screenings mittels LIA bereits international gängige Praxis ist (70,74).

## 4.2 Der diagnostische Stellenwert & die Utilität der Anti-HMGCR- sowie der Anti-cN1A-LIA-Testung für den Klinikalltag

Infantino et al. (68) sowie Lundberg et al. (4) betonen allerdings das unerlässliche Erfordernis nach einer vorab zu erfolgenden, strengen Validierung bzw. Untersuchung der Validität jener rezenter entwickelten Immunoassays, ehe jene konsekutiv potenziell anhand eines MSA- bzw. eines *Anti-HMGCR*- und *Anti-cN1A*-Screenings, beispielsweise mittels LIA, wie in Kapitel 4.1 erläutert, als Tools zur frühzeitigen Diagnosestellung einer IIM genutzt werden können (4,68).

Während die Berechnung der die Validität definierenden Kennzahlen unterschiedlichster MSA zuvor im Zuge einer hier exemplarisch angeführten, von Ghirardello et al. (17) rezent veröffentlichten Arbeit, der Stichprobenzusammensetzung geschuldet, vor dem Hintergrund einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer IIM erfolgte (17), wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit, zum Zwecke der Prüfung der Validität der Detektionsmethode bzw. zur Untersuchung der Utilität des mittels LIA detektierten *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cN1A*-Autoantikörpers, deren entsprechende Kennzahlen und Vorhersagewerte, in unserer Real-Life-Kohorte, im Kontext einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit (5.67 %) ermittelt. Dies spiegelt unseres Erachtens, im Konsens mit Lackner et al. (69) sowie den Resultaten dieser retrospektiven Datenanalyse zufolge, wirklichkeitsgetreuer die alltägliche klinische Anwendung dieser LIA-Testung wider, zumal es sich bei der Gruppe der IIM, wie beispielsweise durch Khoo et al. (2) in der Literatur beschrieben, um eine seltene Erkrankungsgruppe mit niedriger globaler Inzidenz bzw. Prävalenz handelt (2,69).

Die Resultate der vorliegenden Diagnosestudie demonstrieren unter anderem, im Sinne einer Ergänzung zu der durch Lackner et al. (69) publizierte Vorläuferstudie sowie mit den darin enthaltenen Ergebnissen bezüglich anderweitiger MSA des Myositisblots im Einklang stehend (69), einen niedrigen positiven Vorhersagewert als auch LQ des *Anti-HMGCR*- bzw. des *Anti-cN1A*-Autoantikörpers für das tatsächliche Vorliegen einer IIM. Dies entspricht demnach der in Kapitel 1.7.1 erläuterten Forschungshypothese der vorliegenden Diagnosestudie. Unseren Studienergebnissen zufolge würde ein positives *Anti-HMGCR*-LIA-Testresultat für das betroffene Individuum, im Kontext der ebenso im Rahmen dieser Arbeit ermittelten, relativ niedrigen Sensitivität des Antikörpers von 18.03 %, in einer Nachtestwahrscheinlichkeit von nur 25.58 % für das Vorliegen der Erkrankung resultieren (13.95 % explizit für das Vorliegen einer IMNM). Bei der berechneten, zum PPV direkt proportionalen,

klinischen Sensitivität von nur 9.84 % des MSA würde ein positives *Anti-cNIA*-LIA-Testergebnis demzufolge für die getestete Person in einer Wahrscheinlichkeit von lediglich 13.04 % für das tatsächliche Vorliegen einer IIM resultieren (6.52 % explizit für das Vorliegen einer IBM). Dem ebenso berechneten, positiven LQ zufolge ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein an einer IIM erkranktes Individuum mittels LIA positiv auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*-Antikörpers getestet wird, nur 5.72-mal so hoch wie die Wahrscheinlichkeit bei einer nicht an einer IIM erkrankten Person. Anders formuliert könnte, auf den Resultaten dieser Studie basierend, gesagt werden, dass sich die Chance für eine IIM bei Vorhandensein eines positiven *Anti-cNIA*-LIA-Testergebnisses lediglich um ein 2.50-Faches erhöht. Im Einklang mit den Resultaten dieser Diplomarbeit stehend berichten Porcelli et al. (70) in ihrer rezent publizierten Arbeit beispielsweise davon, dass lediglich 2 von 20 (10.0 %) mittels LIA als *anti-cNIA*-positiv klassifizierte Individuen ihrer Stichprobe die Kriterien für das Stellen einer IBM-Diagnose erfüllten (70). Ebenso im Konsens mit den Ergebnissen der vorliegenden Diplomarbeit berichten Beaton et al. (75) in ihrer australischen Studie, deren Stichprobe ebenfalls eine niedrige Prävalenz der IIM (16.4 %) und somit eine niedrige Vortestwahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen der Erkrankung aufwies, über einen niedrigen und somit die Nützlichkeit des LIA negativ beeinflussenden PPV des im Rahmen jener Arbeit untersuchten Myositisblots (75).

Summa summarum deuten die in diesem Unterkapitel erfolgte Interpretation der Resultate der vorliegenden Arbeit sowie das in den vorangehenden Absätzen Geschilderte darauf hin, dass eine derartige, zuvor in Unterkapitel 4.1 erläuterte, vor dem Hintergrund einer niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen der IIM erfolgende, alltägliche Nutzung des MSA- bzw. des *Anti-HMGCR*- sowie des *Anti-cNIA*-Screenings mittels LIA in einem niedrigen diagnostischen Stellenwert dieses Screenings resultiert. Jenes wiederum limitiert dessen Utilität bei Vorliegen IIM-unspezifischer Symptome. Zudem disqualifiziert dies möglicherweise die LIA-Testung auf das Vorliegen des *Anti-HMGCR*- bzw. des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers als essenzielles Element des diagnostischen Work-ups im Kontext einer lediglich suspizierten IIM.

### 4.3 Erkrankungsspektrum positiv getesteter Individuen & Optimierung der klinischen Spezifität der Autoantikörper für die Gruppe der IIM

Ogleich sich MSA, so auch der *Anti-HMGCR*- bzw. der *Anti-cNIA*-Autoantikörper, wie zuvor in Kapitel 4.1 angeführt, gemäß der in der existenten Literatur gängigen Nomenklatur, primär durch ihre hohe Spezifität für die Gruppe der IIM sowie ihr isoliertes Vorkommen in einem Individuum auszeichnen, konnte anhand der Resultate diverser Studien eine relativ hohe Prävalenz des *Anti-cNIA*-Autoantikörpers in den Sera von SLE- (in bis zu 20 %) bzw. SjS-Patienten und Patientinnen (in bis zu 36 %) demonstriert werden (1,46,76). Zumal der im Rahmen dieser Diagnosestudie ermittelte PPV dieses Autoantikörpers für das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung, welche nicht der Gruppe der IIM zuzuordnen ist, jenen für das tatsächliche Vorliegen einer IIM übersteigt (34.78 % vs. 13.04 %), sollen unseres Erachtens insbesondere die Identifikation einer potenziell vorhandenen, statistisch signifikanten Assoziation zwischen einer *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität und dem Vorliegen einer SLE- bzw. SjS-Diagnose sowie die Untersuchung der möglicherweise pathogenetischen Rolle dieses Antikörpers in der Entstehung dieser beider Erkrankungsbilder Gegenstand weiterführender Forschung sein. Jenem berechneten PPV zufolge sowie auf den übrigen Resultaten der vorliegenden Diplomarbeit basierend, denen entnommen werden kann, dass 9 der insgesamt 65 *anti-cNIA*-positiven Personen der ungekürzten Stichprobe multiple MSA-Positivitäten aufwiesen, sollte jener Autoantikörper unseres Erachtens im Konsens mit Rietveld et al. (76) künftig der Gruppe der MAA zugeordnet werden (76).

Ogleich der *Anti-HMGCR*-Autoantikörper zuvor zumeist nicht in den Sera nicht an einer IIM erkrankter Individuen detektiert werden konnte, konnten Mammen et al. (20) anhand der Resultate ihrer Studie zeigen, dass 2 von 45 *anti-HMGCR*-positiven Individuen neben einer IIM-Diagnose zusätzlich die Diagnose einer anderweitigen Autoimmunerkrankung aufwiesen (20). Dies wiederum gab Anlass dazu, die Theorie aufzustellen, dass jener Autoantikörper in seltenen Fällen ebenso bei Personen mit einer OM nachgewiesen werden könne (17,20). Unsere Studienergebnisse zeigen wiederum, basierend auf der Anzahl *anti-HMGCR*-positiver Personen mit einer anderweitigen Autoimmunerkrankung (11/43), einen PPV des Antikörpers, welcher für das Vorliegen einer Autoimmunerkrankung, die nicht zu der Gruppe der IIM gezählt wird und das Vorliegen einer IIM gleich hoch (25.58 %) ist. 13 der in Summe 60 *anti-HMGCR*-positiven Individuen unserer ungekürzten Stichprobe wiesen außerdem ebenso multiple MSA-Positivitäten auf, worauf basierend auch dieser Autoantikörper möglicherweise als MAA klassifiziert werden sollte. Diese unsererseits aufgestellten

Theorien bezüglich einer erforderlichen Reklassifizierung des *Anti-cNIA*- bzw. des *Anti-HMGCR*-Autoantikörpers sowie jene Resultate gilt es jedoch, zumal sie potenziell dem LIA selbst geschuldet sind, anhand der Nutzung anderweitiger Detektionsmethoden in weiterführenden Studien zu überprüfen.

Wie bereits in Kapitel 1.6.4 angeführt, betont die Forschungsgruppe rund um Infantino (68) schließlich, vor dem Hintergrund der ihrerseits geschilderten mangelnden klinischen Spezifität des LIA, den Bedarf einer Optimierung derselben (68). Betont wird dies, da insbesondere ein inkorrekt positives Testresultat für das betroffene Individuum potenziell in nicht belanglosen negativen Konsequenzen resultieren würde (68). Cavazzana et al. (77) stellten folglich die Theorie auf, dass eine Vermeidung inkorrekt positiver Testergebnisse im Klinikalltag möglicherweise durch die alleinige Berücksichtigung von stärkeren Autoantikörperpositivitäten bzw. von Resultaten mit höheren Signalintensitäten erzielt werden könnte (77). Loarce-Martos et al. (74) konnten darauffolgend anhand der Resultate ihrer retrospektiven Studie eine Assoziation zwischen dem Vorhandensein eines positiven LIA-Testresultates mit niedriger Signalintensität sowie einem als klinisch inkorrekt positiv bezeichneten Testergebnis demonstrieren (74). Als klinisch korrekt positiv klassifizierte MSA-Testresultate wiesen hingegen statistisch signifikant häufiger höhere, in willkürlichen Einheiten angegebene Signalintensitäten auf (74).

Auf dem im vorangehenden Absatz Geschilderten basierend sowie an die Vorgehensweise von Lackner et al. (69) angelehnt erfolgte im Rahmen dieser Diplomarbeit die Durchführung von ROC-Analysen zur Identifikation neuer, höherer Signalintensitätsschwellenwerte zur Definition einer MSA-Positivität, um dadurch potenziell die klinische Spezifität des mittels LIA detektierten *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörpers für die Gruppe der IIM zu optimieren. Die Resultate jener im Zuge dieser Arbeit durchgeführten ROC-Analysen zeigen dabei, dass eine Erhöhung des Schwellenwertes von  $>10$  auf  $>19$  willkürliche Einheiten für die Definition einer *Anti-HMGCR*-Autoantikörperpositivität bei gleichbleibender klinischer Sensitivität des MSA in einer Erhöhung des PPV für das Vorliegen einer IIM-Diagnose (25.6 % vs. 42.3 %) bzw. in einer Reduktion der Anzahl klinisch inkorrekt positiver *Anti-HMGCR*-Testergebnisse (32 vs. 15) resultiert. Konsekutiv kann dadurch die klinische Spezifität des mittels LIA detektierten *Anti-HMGCR*-Antikörpers für die Gruppe der IIM optimiert werden (96.8 % vs. 98.5 %). Die Erhöhung des Schwellenwertes von  $>10$  auf  $>17$  willkürliche Einheiten für die Definition einer *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität führt

wiederum, den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge, neben einer Optimierung der klinischen Spezifität dieses Antikörpers für diese Erkrankungsgruppe (96.1 % vs. 97.1 %), ohne dabei dessen klinische Sensitivität negativ zu beeinflussen, sowie zusätzlich zu einer Verminderung der Anzahl klinisch inkorrekt positiver *Anti-cNIA*-Testresultate (40 vs. 29) zu einer Erhöhung des PPV des MSA für das tatsächliche Vorliegen einer IIM (13.0 % vs. 17.1 %).

Unseres Erachtens vermögen es diese Resultate potenziell, Kliniker und Klinikerinnen im Alltag bzw. im Zuge der IIM-Diagnostik dabei zu unterstützen, positive *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Testergebnisse mit Signalintensitäten, welche unterhalb jener im Rahmen dieser Diagnosestudie neu ermittelten Schwellenwerte liegen, korrekt zu interpretieren bzw. dadurch zugunsten des Patienten oder der Patientin die Anzahl klinisch inkorrekt positiver LIA-Resultate zu reduzieren. Die daraus resultierende Erhöhung der PPV der beiden untersuchten Autoantikörper könnte demnach potenziell die Utilität der beiden mittels LIA detektierten Antikörper für die Diagnosestellung einer IIM steigern. Zumal derartige Studienergebnisse möglicherweise zur Kreierung eines Trends, der in Richtung Erhöhung der Signalintensitätsschwellenwerte für die Definition einer MSA-Positivität im Klinikalltag geht, beitragen können, gilt es, diese Resultate künftig in umfangreicheren Multicenterstudien bzw. anhand der Daten weiterer Real-Life-Stichproben zu überprüfen.

## 4.4 Korrelationen

Während das Resultat unserer Korrelationsanalyse keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Variablen „Personenalter in Jahren“ und „*Anti-HMGCR*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ demonstrieren konnte, wurde unsererseits überraschenderweise anhand der Studienergebnisse der vorliegenden Arbeit unter der Berücksichtigung der LIA-Resultate der ungekürzten Stichprobe ein sehr schwacher, negativer, monotoner sowie statistisch signifikanter Zusammenhang ( $r_s = -.069, p = .004$ ) zwischen den beiden Merkmalen „Personenalter in Jahren“ und „*Anti-cN1A*-Autoantikörperspiegel in willkürlichen Einheiten“ aufgezeigt. Ob die IBM nun tatsächlich als Autoimmunerkrankung klassifiziert werden soll, wurde, unter anderem ebenso der Tatsache geschuldet, dass Individuen, welche an jenem Erkrankungssubset erkrankt sind, nicht auf eine konventionelle immunsuppressive Pharmakotherapie ansprechen, in der Vergangenheit eingehend diskutiert, zumal auch die Muskelbiopsate der Betroffenen sowohl inflammatorische als auch degenerative histopathologische Merkmale aufweisen (43,78). Trotz der Tatsache, dass dem *Anti-cN1A*-Autoantikörper eine wesentliche pathogenetische Rolle in der Entstehung einer IBM zugeteilt wird, bleibt bis dato, gemäß der aktuellen Literatur, unklar, welche dieser beiden Komponenten tatsächlich den Beginn der Erkrankung initiiert bzw. den gegenübergestellten Prozess in die Wege leitet (43,78).

Obgleich es sich bei der im Zuge dieser Diplomarbeit identifizierten statistisch signifikanten, negativen Korrelation um eine sehr schwache handelt, der zufolge ein höheres Personenalter mit einem niedrigeren *Anti-cN1A*-Autoantikörpertiter einhergeht, könnte jene unseres Erachtens jedoch möglicherweise darauf hindeuten, dass es sich bei der IBM, welche charakteristischerweise über Jahrzehnte hinweg langsam fortschreitet (4), initial in der Tat um eine primär immunmedierte Erkrankung handelt. Diese jedoch löst demnach konsekutiv degenerative Veränderungen aus, welche möglicherweise vor allem im höheren Alter und demzufolge im späteren Krankheitsverlauf die prädominierende bzw. bedeutsamere Komponente darstellen. Den in diesem Unterkapitel geschilderten Zusammenhang gilt es jedoch, in nachfolgenden Studien zu überprüfen.

## 4.5 Limitationen der Studie

Als wesentliche Limitation der vorliegenden Diagnosestudie soll an dieser Stelle zusätzlich zu der Tatsache, dass es sich hierbei um eine retrospektive Singlecenterstudie handelt, der von uns gewählte Goldstandard zur Berechnung der die Validität definierenden Kennzahlen der mittels LIA detektierten Autoantikörper, welcher die vom behandelnden Arzt oder der behandelnden Ärztin klinisch gestellte bzw. in der elektronischen Krankenakte dokumentierte Diagnose ist, angeführt werden. Schließlich wies dem retrospektiven Studiendesign geschuldet ein wesentlicher Anteil an Individuen der finalen Stichprobe nicht ausreichend detaillierte klinische Daten bzw. eine unzureichende Datenmenge zur, mithilfe der Nutzung des in Kapitel 1.2 angeführten Onlinekalkulators, Anwendung der im Jahr 2017 veröffentlichten bzw. in Tabelle 1 ersichtlichen ACR/EULAR Klassifikationskriterien auf. Betont werden soll jedoch, dass durch die erfolgte Anwendung der entsprechenden Klassifikationskriterien in der Subgruppe der *anti-HMGCR*- bzw. *anti-cNIA*-positiven Personen, deren elektronische Krankenakten einen dafür ausreichenden klinischen Datengehalt aufwiesen, demonstriert werden konnte, dass eine IIM in eben dieser Subgruppe der finalen Stichprobe durch die Behandler bzw. die Behandlerinnen nicht unterdiagnostiziert wurde.

Als weitere Limitation soll die im Rahmen dieser Studie nicht durchgeführte Validierung bzw. Verifizierung der positiven *Anti-HMGCR*- sowie *Anti-cNIA*-LIA-Resultate mittels IP, welche schließlich bis dato, wie zuvor in Kapitel 1.6.1 angeführt, die Goldstandardmethode zur Detektion der Myositisautoantikörper darstellt, angeführt werden, zumal zuvor, anhand der Resultate diverser Studien, wie bereits in Kapitel 1.6.3 erläutert, ein variierender Grad an Übereinstimmung zwischen den Resultaten jener Detektionsmethoden demonstriert wurde (55,57,64). Demzufolge kann unsererseits nicht postuliert werden, dass die anhand der Nutzung des LIA identifizierte *Anti-HMGCR*- bzw. *Anti-cNIA*-Autoantikörperpositivität eines nicht an einer IIM erkrankten Individuums die Realität widerspiegelt oder diese aus einer mangelnden Spezifität der untersuchten Nachweismethode resultiert.

## 4.6 Conclusio

Abschließend soll, primär basierend auf den im Rahmen dieser Diplomarbeit ermittelten, niedrigen PPV der beiden möglicherweise inkorrekt als MSA klassifizierten Autoantikörper, welche wiederum den diagnostischen Nutzen dieser Nachweismethode limitieren, festgehalten werden, dass sich unseres Erachtens, obgleich die LIA-Testung auf das Vorliegen dieser beiden Myositisantikörper, wie im Zuge der vorliegenden Arbeit demonstriert, in eben diesem Kontext häufig in unserem Zentrum angewandt wird, sowohl die *Anti-HMGCR*- als auch die *Anti-cN1A*-Testung mittels LIA nicht als Suchtest bei alleinigem Vorhandensein krankheitsunspezifischer Symptome und somit vor dem Hintergrund einer niedrigen Vor-testwahrscheinlichkeit für das tatsächliche Vorliegen einer IIM bzw. nicht als primäres Diagnostiktool des Klinikalltags für die Diagnosestellung der Erkrankung, im Setting einer lediglich suspizierten IIM, eignet.

## 5 Literaturverzeichnis

1. Betteridge Z, McHugh N. Myositis-specific autoantibodies: an important tool to support diagnosis of myositis. *J Intern Med* [Internet]. 2016 Jul;280(1):8–23. Available from: <https://doi.org/10.1111/joim.12451>. Accessed March 20, 2024.
2. Khoo T, Lilleker JB, Thong BY, Leclair V, Lamb JA, Chinoy H. Epidemiology of the idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Rheumatol*. 2023 Nov;19(11):695–712.
3. Herold G, Beckers H, Lehmann K. *Innere Medizin*. 1. Auflage. Köln: Dr. Gerd Herold; 2023. p. 680-1
4. Lundberg IE, Fujimoto M, Vencovsky J, Aggarwal R, Holmqvist M, Christopher-Stine L et al. Idiopathic inflammatory myopathies. *Nat Rev Dis Primers*. 2021 Dec 2;7(1):86.
5. Lundberg IE, Tjärnlund A, Bottai M, Werth VP, Pilkington C, Visser M et al. 2017 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2017 Dec;76(12):1955–64. Available from: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211468>. Accessed March 19, 2024.
6. Mariampillai K, Granger B, Amelin D, Guiguet M, Hachulla E, Maurier F et al. Development of a New Classification System for Idiopathic Inflammatory Myopathies Based on Clinical Manifestations and Myositis-Specific Autoantibodies. *JAMA Neurol* [Internet]. 2018 Dec 1;75(12):1528-37. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.2598>. Accessed March 21, 2024.
7. Gazeley DJ, Cronin ME. Diagnosis and treatment of the idiopathic inflammatory myopathies. *Ther Adv Musculoskelet Dis* [Internet]. 2011 Dec;3(6):315-24. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC22870489/>. Accessed April 14, 2024.
8. Dalakas MC. Inflammatory muscle diseases. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Apr 30;372(18):1734–47. Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1402225>. Accessed April 29, 2024.
9. Tieu J, Lundberg IE, Limaye V. Idiopathic inflammatory myositis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* [Internet]. 2016 Feb;30(1):149–68. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.berh.2016.04.007>. Accessed April 29, 2024.
10. Böcker W, Denk H, Heitz PhU, Höfler G, Kreipe H, Moch H. *Pathologie*. 5. Auflage. München: URBAN & FISCHER (Elsevier); 2012. p. 275
11. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med* [Internet]. 1975 Feb 13;292(7):344–7. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197502132920706>. Accessed May 9, 2024.
12. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (second of two parts). *N Engl J Med* [Internet]. 1975 Feb 20;292(8):403–7. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197502202920807>. Accessed May 9, 2024.

13. Julien S, Challier I, Malleter M, Jouen F, Drouot L, Boyer O. Immune-Mediated Necrotizing Myopathy (IMNM): A story of antibodies. *Antibodies (Basel)* [Internet]. 2024 Feb 7;13(1):12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC38390873/>. Accessed March 19, 2024.
14. Hoogendijk JE, Amato AA, Lecky B, Choy E, Lundberg IE, Rose MR et al. 119th ENMC international workshop: trial design in adult idiopathic inflammatory myopathies, with the exception of inclusion body myositis, 10–12 October 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2004 May;14(5):337–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2004.02.006>. Accessed March 22, 2024.
15. Tansley SL, Betteridge ZE, McHugh NJ. The diagnostic utility of autoantibodies in adult and juvenile myositis. *Curr Opin Rheumatol* [Internet]. 2013 Nov;25(6):772–7. Available from: <https://doi.org/10.1097/01.bor.0000434664.37880.ac>. Accessed April 29, 2024.
16. Tansley SL, Simou S, Shaddick G, Betteridge ZE, Almeida B, Gunawardena HP et al. Autoantibodies in juvenile-onset myositis: Their diagnostic value and associated clinical phenotype in a large UK cohort. *J Autoimmun* [Internet]. 2017 Nov;84:55–64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC28663002/>. Accessed April 8, 2024.
17. Ghirardello A, Gatto M, Franco C, Zanatta E, Padoan R, Ienna L et al. Detection of Myositis Autoantibodies by Multi-Analytic Immunoassays in a Large Multicenter Cohort of Patients with Definite Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Diagnostics (Basel)* [Internet]. 2023 Sep 28;13(19):3080. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC37835823/>. Accessed April 15, 2024.
18. McHugh NJ, Tansley SL. Autoantibodies in myositis. *Nat Rev Rheumatol*. 2018 Apr 20;14(5):290–302.
19. Christopher-Stine L, Casciola-Rosen LA, Hong GS, Chung TH, Corse AM, Mammen AL. A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2010 Sep;62(9):2757–66. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.27572>. Accessed March 21, 2024.
20. Mammen AL, Chung T, Christopher-Stine L, Rosen P, Rosen A, Doering KR et al. Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2011 Mar;63(3):713–21. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/art.30156>. Accessed March 21, 2024.
21. Parker RA, Miller SJ, Gibson DM. Phosphorylation of native 97-kDa 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from rat liver. Impact on activity and degradation of the enzyme. *J Biol Chem* [Internet]. 1989 Mar 25;264(9):4877–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2538466/>. Accessed March 21, 2024.
22. Horn F, Moc I, Ziegler P, Berghold S, Armbruster M, Grillhösl C et al, editors. *Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. 6. Auflage. Stuttgart, New York: Thieme; 2015. p. 188–9; 198

23. Allenbach Y, Benveniste O, Stenzel W, Boyer O. Immune-mediated necrotizing myopathy: clinical features and pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2020 Dec;16(12):689–701. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41584-020-00515-9>. Accessed April 14, 2024.
24. Pinal-Fernandez I, Casal-Dominguez M, Mammen AL. Immune-Mediated Necrotizing Myopathy. *Curr Rheumatol Rep* [Internet]. 2018 Mar 26;20(4):21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC29582188/>. Accessed April 14, 2024.
25. Miller FW, Lamb JA, Schmidt J, Nagaraju K. Risk factors and disease mechanisms in myositis. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2018 Apr 20;14(5):255–68. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC29674613/>. Accessed April 14, 2024.
26. Mammen AL, Gaudet D, Brisson D, Christopher-Stine L, Lloyd TE, Leffell MS et al. Increased frequency of DRB1\*11:01 in anti-hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Care Res (Hoboken)* [Internet]. 2012 Aug;64(8):1233–7. Available from: <https://doi.org/10.1002/acr.21671>. Accessed April 14, 2024.
27. Mohassel P, Mammen AL. Anti-HMGCR Myopathy. *J Neuromuscul Dis* [Internet]. 2018;5(1):11–20. Available from: <https://doi.org/10.3233/JND-170282>. Accessed April 13, 2024.
28. Werner JL, Christopher-Stine L, Ghazarian SR, Pak KS, Kus JE, Daya NR et al. Antibody levels correlate with creatine kinase levels and strength in anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2012 Dec;64(12):4087–93. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/art.34673>. Accessed April 13, 2024.
29. Allenbach Y, Arouche-Delaperche L, Preusse C, Radbruch H, Butler-Browne G, Champtiaux N et al. Necrosis in anti-SRP<sup>+</sup> and anti-HMGCR<sup>+</sup> myopathies: Role of autoantibodies and complement. *Neurology* [Internet]. 2018 Feb 6;90(6):e507-e17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29330311/>. Accessed April 14, 2024.
30. Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas M, Plotz PH et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 1991 Nov;70(6):360-74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1659647/>. Accessed April 15, 2024.
31. Lilleker JB, Vencovsky J, Wang G, Wedderburn LR, Diederichsen LP, Schmidt J et al. The EuroMyositis registry: an international collaborative tool to facilitate myositis research. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2018 Jan;77(1):30-9. Available from: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211868>. Accessed April 15, 2024.
32. Allenbach Y, Keraen J, Bouvier AM, Jooste V, Champtiaux N, Hervier B et al. High risk of cancer in autoimmune necrotizing myopathies: usefulness of myositis specific antibody. *Brain* [Internet]. 2016 Aug;139(Pt 8):2131–5. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/aww054>. Accessed April 16, 2024.

33. Chung T, Christopher-Stine L, Paik JJ, Corse A, Mammen AL. The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve* [Internet]. 2015 Aug;52(2):189–95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC25737145/>. Accessed April 14, 2024.
34. Salajegheh M, Lam T, Greenberg SA. Autoantibodies against a 43 KDa Muscle Protein in Inclusion Body Myositis. *PloS One* [Internet]. 2011 May 23;6(5):e20266. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020266>. Accessed March 23, 2024.
35. Salajegheh M, Pinkus JL, Amato AA, Morehouse C, Jallal B, Yao Y et al. Permissive environment for B-cell maturation in myositis muscle in the absence of B-cell follicles. *Muscle Nerve* [Internet]. 2010 Oct;42(4):576–83. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mus.21739>. Accessed March 24, 2024.
36. Engel AG, Arahata K. Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. II: Phenotypes of autoinvasive cells in polymyositis and inclusion body myositis. *Ann Neurol* [Internet]. 1984 Aug;16(2):209–15. Available from: <https://doi.org/10.1002/ana.410160207>. Accessed March 23, 2024.
37. Greenberg SA. DNA microarray gene expression analysis technology and its application to neurological disorders. *Neurology* [Internet]. 2001 Sep 11;57(5):755–61. Available from: <https://doi.org/10.1212/WNL.57.5.755>. Accessed March 23, 2024.
38. Greenberg SA, Sanoudou D, Haslett JN, Kohane IS, Kunkel LM, Beggs AH et al. Molecular profiles of inflammatory myopathies. *Neurology* [Internet]. 2002 Oct 22;59(8):1170–82. Available from: <https://doi.org/10.1212/WNL.59.8.1170>. Accessed March 23, 2024.
39. Greenberg SA, Bradshaw EM, Pinkus JL, Pinkus GS, Burleson T, Due B et al. Plasma cells in muscle in inclusion body myositis and polymyositis. *Neurology* [Internet]. 2005 Dec 13;65(11):1782–7. Available from: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000187124.92826.20>. Accessed March 23, 2024.
40. Larman HB, Salajegheh M, Nazareno R, Lam T, Sauld J, Steen H et al. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoimmunity in sporadic inclusion body myositis. *Ann Neurol* [Internet]. 2013 Mar;73(3):408–18. Available from: <https://doi.org/10.1002/ana.23840>. Accessed March 23, 2024.
41. Hunsucker SA, Spychała J, Mitchell BS. Human cytosolic 5'-Nucleotidase I: characterization and role in nucleoside analog resistance. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Mar 30;276(13):10498–504. Available from: <https://doi.org/10.1074/jbc.M011218200>. Accessed March 23, 2024.
42. Pluk H, van Hoeve BJ, van Dooren SH, Stammen-Vogelzangs J, van der Heijden A, Schelhaas HJ et al. Autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in inclusion body myositis. *Ann Neurol* [Internet]. 2013 Mar;73(3):397–407. Available from: <https://doi.org/10.1002/ana.23822>. Accessed March 23, 2024.
43. Naddaf E, Barohn RJ, Dimachkie MM. Inclusion Body Myositis: Update on Pathogenesis and Treatment. *Neurotherapeutics* [Internet]. 2018 Oct 14;15(4):995–1005. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13311-018-0658-8>. Accessed April 30, 2024.

44. Griggs RC, Askanas V, DiMauro S, Engel A, Karpati G, Mendell JR et al. Inclusion body myositis and myopathies. *Ann Neurol* [Internet]. 1995 Nov;38(5):705-13. Available from: <https://doi.org/10.1002/ana.410380504>. Accessed April 30, 2024.
45. Rose MR; ENMC IBM Working Group. 188th ENMC International Workshop: Inclusion Body Myositis, 2-4 December 2011, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul Disord* [Internet]. 2013 Dec;23(12):1044-55. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nmd.2013.08.007>. Accessed April 30, 2024.
46. Herbert MK, Stammen-Vogelzangs J, Verbeek MM, Rietveld A, Lundberg IE, Chinoy H et al. Disease specificity of autoantibodies to cytosolic 5'-nucleotidase 1A in sporadic inclusion body myositis versus known autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2016 Apr;75(4):696-701. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC25714931/>. Accessed April 30, 2024.
47. Benveniste O, Guiguet M, Freebody J, Dubourg O, Squier W, Maisonobe T et al. Long-term observational study of sporadic inclusion body myositis. *Brain* [Internet]. 2011 Nov;134(Pt 11):3176-84. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/awr213>. Accessed April 30, 2024.
48. Rothwell S, Cooper RG, Lundberg IE, Gregersen PK, Hanna MG, Machado PM et al; Myositis Genetics Consortium. Immune-Array Analysis in Sporadic Inclusion Body Myositis Reveals HLA-DRB1 Amino Acid Heterogeneity Across the Myositis Spectrum. *Arthritis Rheumatol* [Internet]. 2017 May;69(5):1090-9. Available from: <https://doi.org/10.1002/art.40045>. Accessed April 30, 2024.
49. Dalakas MC, Rakocevic G, Shatunov A, Goldfarb L, Raju R, Salajegheh M. Inclusion body myositis with human immunodeficiency virus infection: four cases with clonal expansion of viral-specific T cells. *Ann Neurol* [Internet]. 2007 May;61(5):466-75. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.21103>. Accessed April 30, 2024.
50. Matsuura E, Umehara F, Nose H, Higuchi I, Matsuoka E, Izumi K et al. Inclusion body myositis associated with human T-lymphotropic virus-type I infection: eleven patients from an endemic area in Japan. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2008 Jan;67(1):41-9. Available from: <https://doi.org/10.1097/nen.0b013e31815f38b7>. Accessed May 1, 2024.
51. Lilleker JB, Rietveld A, Pye SR, Mariampillai K, Benveniste O, Peeters MT et al; all UKMYONET contributors. Cytosolic 5'-nucleotidase 1A autoantibody profile and clinical characteristics in inclusion body myositis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2017 May;76(5):862-8. Available from: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210282>. Accessed May 1, 2024.
52. Dubourg O, Wanschitz J, Maisonobe T, Béhin A, Allenbach Y, Herson S et al. Diagnostic value of markers of muscle degeneration in sporadic inclusion body myositis. *Acta Myol* [Internet]. 2011 Oct;30(2):103-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC22106712/>. Accessed May 2, 2024.



64. Mahler M, Betteridge Z, Bentow C, Richards M, Seaman A, Chinoy H et al. Comparison of three immunoassays for the detection of myositis specific antibodies. *Front Immunol* [Internet]. 2019 Apr 30;10:848. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC631114570/>. Accessed April 20, 2024.
65. Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik*. 7. Auflage. Berlin: Springer; 2019. p. 239; 243
66. Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik*. 7. Auflage. Berlin: Springer; 2019. p. 238
67. Ghirardello A, Rampudda M, Ekholm L, Bassi N, Tarricone E, Zampieri S et al. Diagnostic performance and validation of autoantibody testing in myositis by a commercial line blot assay. *Rheumatology (Oxford)* [Internet]. 2010 Dec;49(12):2370-4. Available from: <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keq281>. Accessed May 3, 2024.
68. Infantino M, Manfredi M, Grossi V, Benucci M. Detection of myositis-specific antibodies: additional notes. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2019 Apr;78(4):e29. Available from: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213320>. Accessed May 5, 2024.
69. Lackner A, Tiefenthaler V, Mirzayeva J, Posch F, Rossmann C, Kastrati K et al. The use and diagnostic value of testing myositis-specific and myositis-associated autoantibodies by line immuno-assay: a retrospective study. *Ther Adv Musculoskelet Dis* [Internet]. 2020 Dec 8;12:1759720X20975907. Available from: <https://doi.org/10.1177/1759720X20975907>. Accessed July 30, 2024.
70. Porcelli B, d'Alessandro M, Gupta L, Grazzini S, Volpi N, Bacarelli MR et al. Anti-Cytosolic 5'-Nucleotidase 1A in the Diagnosis of Patients with Suspected Idiopathic Inflammatory Myopathies: An Italian Real-Life, Single-Centre Retrospective Study. *Biomedicines* [Internet]. 2023 Jul 12;11(7):1963. Available from: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071963>. Accessed July 30, 2024.
71. Held L, Rufibach K, Seifert B. *Medizinische Statistik: Konzepte, Methoden, Anwendungen*. 1. Auflage. München: Pearson; 2013. p. 285-291
72. EUROLINE Autoimmune Inflammatorische Myopathien 16 Ag et cN-1A et HMGCR (IgG) Gebrauchsanweisung, Euroimmun, Lübeck, DE, 2022.
73. Novustat [Internet]. Positiver prädiktiver Wert. Available at: <https://novustat.com/statistik-glossar/positiver-praediktiver-wert.html>. Accessed October 2, 2024.
74. Loarce-Martos J, Calvo Sanz L, Garrote-Corral S, Ballester González R, Pariente Rodríguez R, Rita CG et al. Myositis autoantibodies detected by line blot immunoassay: clinical associations and correlation with antibody signal intensity. *Rheumatol Int*. 2023 Jun;43(6):1101-9.
75. Beaton TJ, Gillis D, Prain K, Morwood K, Anderson J, Goddard J et al. Performance of myositis-specific antibodies detected on myositis line immunoassay to diagnose and sub-classify patients with suspected idiopathic inflammatory myopathy, a retrospective records-based review. *Int J Rheum Dis*. 2021 Sep;24(9):1167-75.

76. Rietveld A, van den Hoogen LL, Bizzaro N, Blokland SLM, Dähnrich C, Gottenberg JE et al. Autoantibodies to Cytosolic 5'-Nucleotidase 1A in Primary Sjögren's Syndrome and Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol* [Internet]. 2018 Jun 5;9:1200. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6422285/>. Accessed October 14, 2024.
77. Cavazzana I, Fredi M, Franceschini F. Semiquantitative analysis of line blot assay for myositis-specific and myositis-associated antibodies: a better performance? *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2020 Nov;79(11):e152. Available from: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2019-215884>. Accessed October 14, 2024.
78. McLeish E, Slater N, Sooda A, Wilson A, Coudert JD, Lloyd TE et al. Inclusion body myositis: The interplay between ageing, muscle degeneration and autoimmunity. *Best Pract Res Clin Rheumatol* [Internet]. 2022 Jun;36(2):101761. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.berh.2022.101761>. Accessed October 14, 2024.