

Aus der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie
der Universität zu Lübeck

Direktorin: Prof. Dr. med. Gabriela Riemekasten

**Netzwerksignaturen neuer Autoantikörper gegen
G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und verwandte Moleküle
bei Erkrankungsmanifestationen der systemischen Sklerose**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von

Kristina Sterner

aus Hamburg

Lübeck 2021

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Gabriela Riemekasten

2. Berichterstatter*in: Prof. Dr. med. Verena-Wilbeth Sailer

Tag der mündlichen Prüfung: 6.7.2022

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 6.7.2022

Promotionskommission der Sektion Medizin

Zur besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Arbeit auf die geschlechtsspezifische Schreibweise verzichtet. Es wird das generische Maskulinum verwendet, wobei weibliche und anderweitige Geschlechteridentitäten dabei ausdrücklich mitgemeint werden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	1
1.1	Systemische Sklerose	1
1.1.1	Definition und Epidemiologie	1
1.1.2	Ätiologie und Pathogenese	1
1.1.2.1	Endotheldysfunktion	2
1.1.2.2	Immunsystemdysregulation.....	2
1.1.2.3	Fibrose	2
1.1.3	Klinisches Bild.....	3
1.1.3.1	Verlaufsform.....	3
1.1.3.2	Hautbeteiligung	3
1.1.3.3	Beteiligung der inneren Organe	3
1.1.4	Diagnose	5
1.1.5	Therapie	5
1.2	G-protein-gekoppelte Rezeptoren	6
1.3	Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktorrezeptoren	8
1.4	Autoantikörper gegen GPCR und verwandte Moleküle	9
1.4.1	Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke	10
1.4.2	Autoantikörper-Level als Erkrankungsmarker	10
1.5	Fragestellung der Arbeit	11
2	Patienten, Material und Methoden	12
2.1	Ethikvotum	12
2.2	Patienten-Einschlusskriterien	12
2.3	Klinische Patienten-Charakterisierung	12
2.3.1	SSc-Verlaufsform.....	12
2.3.2	Demografische Daten und Komorbidität	12
2.3.3	ACR/EULAR – Kriterien	13

2.3.4	EUSTAR-Aktivitätsindex	14
2.3.5	Organbeteiligung	14
2.3.6	Serologische Befunde.....	15
2.3.7	Medikation	16
2.3.8	Morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen	16
2.4	Kontrollgruppe.....	16
2.5	Probenaufbereitung und Messung	17
2.6	Statistische Auswertung	17
2.6.1	Basisstatistik als Ausgangspunkt für die Kooperationen.....	17
2.6.1.1	Autoantikörper und SSc-Erkrankung.....	18
2.6.1.2	Autoantikörper und Krankheitsmanifestationen der SSc	18
2.6.2	Statistische Auswertung in Kooperation mit dem IMBS	19
2.6.2.1	Autoantikörper-Cluster	19
2.6.2.2	Regressionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale	19
2.6.2.3	Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale .	20
2.6.3	Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke	20
2.6.4	Statistische Auswertung in Kooperation mit dem LIED.....	21
2.6.4.1	Validierung der Ergebnisse des IMBS.....	21
2.6.4.2	Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale .	21
2.6.4.3	Autoantikörper-Hauptkomponenten und klinische Merkmale	22
3	Ergebnisse.....	23
3.1	Deskriptive Statistik.....	23
3.1.1	Patientenkollektiv.....	23
3.1.1.1	Demografische Daten und Komorbidität	23
3.1.1.2	Klassifikationskriterien und Scores.....	23
3.1.1.3	Organbeteiligung.....	24
3.1.1.4	Serologische Befunde	24
3.1.1.5	Medikation.....	24

3.1.2	Kontrollgruppe	25
3.2	Autoantikörperveränderungen bei SSc-Erkrankung	25
3.2.1	Unterschiede in den Autoantikörperwerten zwischen SSc und HC....	25
3.2.2	Prädiktiver Wert der Autoantikörper für die SSc	26
3.2.3	Autoantikörper und Krankheitsmanifestationen der SSc.....	27
3.2.3.1	Organmanifestationen.....	27
3.2.3.2	Modified Rodnan skin score und weitere klinische Parameter ...	28
3.2.3.3	Medikation.....	29
3.2.4	Prädiktiver Wert der Autoantikörper für Krankheitsmanifestationen...	29
3.3	Auswertung in Kooperation mit dem IMBS.....	29
3.3.1	Korrelationsanalysen der Autoantikörper	30
3.3.2	Regressionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale.....	30
3.3.2.1	Antikörpercluster 1: M5R, M2R, ETBR, C3aR, C5aR	32
3.3.2.2	Antikörpercluster 2: PIGF, HGFR, EGFR	33
3.3.2.3	Antikörpercluster 3: PAR2, M3R, M4R, CXCR3.....	33
3.3.2.4	Antikörpercluster 4: VEGF-A, AT1R, ETAR, ADRA1	34
3.3.2.5	Antikörpercluster 5: M1R, ADRA2, ADRB1, ADRB2	34
3.3.2.6	Antikörpercluster 6: VEGF-R1, PAR1, EGF, CXCR4	35
3.3.2.7	Antikörpercluster 7: VEGF-R2, PDGF-AA, HGF und FGF	35
3.3.3	Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale.....	36
3.4	Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke	37
3.5	Auswertung in Kooperation mit dem LIED.....	40
3.5.1	Korrelationsanalysen zwischen den Autoantikörpern	40
3.5.2	Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale.....	40
3.5.2.1	Autoantikörper-Hauptkomponenten und klinische Merkmale	42
4	Diskussion	44
4.1	Diskussion der Methoden.....	44
4.1.1	Patientenkohorte.....	44

4.1.2	Klinische Charakterisierung der SSc-Patienten	45
4.1.2.1	Morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen	46
4.1.3	Kontrollgruppe	47
4.1.4	Probenaufbereitung und Messung	47
4.1.5	Statistische Auswertung	49
4.2	Diskussion der Ergebnisse	49
4.2.1	Deskriptive klinische Charakterisierung der SSc-Patienten	49
4.2.1.1	Organbeteiligungen	50
4.2.2	Assoziationen zwischen Autoantikörpern und SSc	51
4.2.2.1	Autoantikörper als Biomarker für die SSc	52
4.2.3	Assoziationen zwischen Autoantikörpern und SSc-Manifestationen ..	55
4.2.3.1	Ak-Veränderungen bei Vaskulopathie und Inflammation	55
4.2.3.2	Veränderungen ausgewählter Autoantikörper	56
4.2.3.3	Autoantikörper als Biomarker für SSc-Manifestationen	59
4.2.4	Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken	59
4.2.4.1	Auffällige Korrelationen bei der SSc im Vergleich zu HC	60
4.2.4.2	Korrelation der ETAR-Ak und ADRB2-Ak bei Lungenfibrose	62
4.2.5	Pathophysiologie und funktionelle Wirkung der Autoantikörper	63
4.3	Ausblick	64
5	Zusammenfassung	65
6	Literaturverzeichnis	66
7	Anhänge	80
7.1	Ethikvotum	80
7.2	Sammlung und Aufbereitung von Seren	81
7.2.1	Sammlung von Seren - HC - Standard Operating Procedure	81
7.2.2	Sammlung von Seren - SSc - Standard Operating Procedure	81
7.2.3	Serumaufbereitung - Standard Operating Procedure	81
7.3	Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs	82

7.3.1	Demografische Daten und Komorbidität	82
7.3.2	Klassifikationskriterien und Scores	83
7.3.3	Organbeteiligung	84
7.3.4	Serologische Befunde.....	86
7.3.5	Medikation	87
7.4	Autoantikörper-Level in Zusammenschau mit der Klinik.....	88
7.4.1	Prädiktiver Wert der Autoantikörper für die SSc	91
7.4.2	p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests für Autoantikörper und Klinik	92
7.5	Kooperation mit dem IMBS	96
7.5.1	Verteilung der Autoantikörperwerte	96
7.5.2	Verteilung der kontinuierlichen klinischen Variablen.....	96
7.5.3	Konfidenzintervalle der klinischen Manifestationen der SSc.....	97
7.5.4	Alters-Konfidenzintervalle der Regressionsmodelle.....	99
7.6	Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke	101
7.7	Kooperation mit dem LIED	102
7.7.1	Verteilung der Autoantikörperwerte	102
7.7.2	Hierarchische Clusteranalyse	102
7.7.3	Autoantikörper-Hauptkomponentenanalyse.....	103
7.7.3.1	Korrelationen der Autoantikörper und den Hauptkomponenten	103
7.7.3.2	Beiträge der Autoantikörper zu den Hauptkomponenten	104
7.7.4	Biplots klinischer Manifestationen auf den Hauptkomponenten.....	106
8	Danksagungen.....	107
9	Lebenslauf	108

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Autoantikörper-Level von Patienten mit systemischer Sklerose im Vergleich zu Gesundkontrollen	25
Abbildung 2: Receiver-Operating-Characteristic der Autoantikörper-Level mit hohem prädiktivem Wert in der SSc-Vorhersage	26
Abbildung 3: Level der GPCR-Autoantikörper bei Lungenfibrose, Herzbeteiligung und Pulmonal-arterieller Hypertonie	27
Abbildung 4: Hauptkomponentenanalyse der Autoantikörper-Level (1)	30
Abbildung 5: Hierarchische Cluster der Autoantikörper-Korrelationssignatur (1)..	31
Abbildung 6: Regressionsanalyse der Autoantikörper-Level von Patienten mit systemischer Sklerose im Vergleich zu Gesundkontrollen	32
Abbildung 7: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 1...	33
Abbildung 8: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 2...	33
Abbildung 9: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 3...	34
Abbildung 10: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 4	34
Abbildung 11: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 5	35
Abbildung 12: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 6	35
Abbildung 13: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 7	36
Abbildung 14: Geschätzte Area Under the Curve von Autoantikörper-Leveln in der Prädiktion klinischer Merkmale	37
Abbildung 15: Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken (1)	38
Abbildung 16: Hauptkomponentenanalyse der Autoantikörper-Level (2)	40
Abbildung 17: Feature importance ranking der Autoantikörper-Wichtigkeit im Random Forest Klassifikator	41
Abbildung 18: Beitrag der Autoantikörper zu den Hauptkomponenten 1 und 2	43

Abbildungsverzeichnis des Anhangs

Abbildung 19: Autoantikörper-Level für Gesundkontrollen und systemische Sklerose sowie die Verlaufsformen diffus-kutan und limitiert-kutan (1)	88
Abbildung 20: Autoantikörper-Level für Gesundkontrollen und systemische Sklerose sowie die Verlaufsformen diffus-kutan und limitiert-kutan (2)	89
Abbildung 21: Autoantikörper-Level für Gesundkontrollen und systemische Sklerose sowie die Verlaufsformen diffus-kutan und limitiert-kutan (3)	90
Abbildung 22: Empirische Verteilung der Autoantikörper-Level nach Box-Cox Powertransformation, Skalierung und Zentrierung	96
Abbildung 23: Empirische Verteilung der kontinuierlichen klinischen Variablen nach Imputation fehlender Werte und Box-Cox Powertransformation.....	96
Abbildung 24: Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken (2).....	101
Abbildung 25: Empirische Verteilung der Autoantikörper-Level nach Yeo-Johnson Transformation, Skalierung und Zentrierung	102
Abbildung 26: Hierarchische Cluster der Autoantikörper-Korrelationssignatur ...	102
Abbildung 27: Autoantikörper-Beiträge zu den Hauptkomponenten 1-4 (n = 177)	104
Abbildung 28: Autoantikörper-Beiträge zu den Hauptkomponenten 1-4 (n = 110)	105
Abbildung 29: Biplots klinischer Parameter auf den Hauptkomponenten 1 und 2.	106

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1: ACR/EULAR-Kriterien nach Hoogen et. al. (2013) [58]	13
Tabelle 2-2: Modifizierter EUSTAR-Aktivitätsindex nach Valentini et al. (2017) [121]	14
Tabelle 2-3: Erhobene Organfunktionsparameter in SSc-Patienten.....	15
Tabelle 2-4: Erhobene Routinelabor- und Autoimmundiagnostikbefunde in Patienten mit systemischer Sklerose.....	15
Tabelle 2-5: Medikamentenkategorisierung zur Auswertung.....	16
Tabelle 3-1: Übersicht klinischer Parameter der SSc-Patienten.....	23
Tabelle 3-2: Dichotome klinische Merkmale mit $n \geq 40$ und einer Balance $\geq 0,2$..	29
Tabelle 3-3: Korrelationskoeffizienten und p-Werte der zwischen SSc und Gesundkontrollen auffällig veränderten Korrelationen.....	38
Tabelle 3-4: Korrelationskoeffizienten bei Lungenfibrose auffällig veränderter Autoantikörper-Korrelation.....	39
Tabelle 3-5: p-Werte der Unterschiede bei Lungenfibrose auffällig veränderter Autoantikörper-Korrelationen.....	40
Tabelle 3-6: Vorhersage klinischer SSc-Manifestationen anhand von Autoantikörpern, basierend auf dem Random Forest Klassifikator.....	42
Tabelle 3-7: Konfidenzintervalle der Hauptkomponenten-Effekte auf Krankheitsmanifestationen der SSc	43
Tabelle 4-1: Methodischer Vergleich der Erstellung kreisförmiger Korrelations- diagramme von Autoantikörpernetzwerken mit Cabral-Marques et al. [19]	60

Tabellenverzeichnis des Anhangs

Tabelle 7-1 Demografische Daten und Komorbiditäten der SSc- Patienten	82
Tabelle 7-2: Klassifikationskriterien und Scores der SSc-Patienten	83
Tabelle 7-3 Organfunktionsparameter der SSc-Patienten.....	84
Tabelle 7-4: Routinelabor und Autoimmundiagnostik der SSc-Patienten	86
Tabelle 7-5: Medikamentöse Therapie der SSc-Patienten	87
Tabelle 7-6: Teststatistik der Receiver-Operating-Characteristic im Vergleich der Autoantikörper-Level von SSc-Patienten und Gesundkontrollen.....	91
Tabelle 7-7: Asymptotische Signifikanz p nach Mann-Whitney-U-Test für ausgewählte klinische Manifestationen und für die Therapie	92
Tabelle 7-8: Autoantikörper-Level-Konfidenzintervalle in den Regressionsmodellen für Autoantikörper-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen	97
Tabelle 7-9: Autoantikörper-Level-Konfidenzintervalle in den Regressionsmodellen für Autoantikörper-Level, Alter und kontinuierliche klinische Manifestationen	98
Tabelle 7-10 Alters-Konfidenzintervalle in den Regressionsmodellen für Autoantikörper-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen.....	99
Tabelle 7-11: Alters-Konfidenzintervalle in den Regressionsmodellen für Autoantikörper-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen.....	100
Tabelle 7-12: Signifikante Korrelationen zwischen Autoantikörper-Leveln und Autoantikörper-Hauptkomponenten von SSc-Patienten (n = 177).....	103
Tabelle 7-13: Signifikante Korrelationen zwischen Autoantikörper-Leveln und Autoantikörper-Hauptkomponenten der Ak von SSc-Patienten (n = 110)	103

Abkürzungsverzeichnis

ACR	American College of Rheumatology
ADRA1	alpha-1-Adrenorezeptor
ADRA2	alpha-2-Adrenorezeptor
ADRB1	beta-1-Adrenorezeptor
ADRB2	beta-2-Adrenorezeptor
Ak	Autoantikörper
AMA M2	Antimitochondriale-M2-Antikörper
ANA	antinukleäre Antikörper
ARPA	Anti-Ribosomale-P-Protein-Antikörper
AT1R	Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptor
AUC	Area Under the Curve
BMI	Body-Mass-Index
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
C3aR	Complement component 3a receptor
C5aR	Complement component 5a receptor 1
CaSR	Calciumsensitiver Rezeptor
CCP	Cyclisches Citrulliniertes Peptid
CENP-B-Ak	Anti-Centromer-Antikörper
CK	Creatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomografie
CXCR3	CXC-motiv-Chemokin-Rezeptoren 3
CXCR4	CXC-motiv-Chemokin-Rezeptoren 4
DNSS	Deutsches Netzwerk für Systemische Sklerodermie
dSSc	diffus-kutane Verlaufsform
Echo	Echokardiografie

EGF	epithelialer Wachstumsfaktor
EGFR	epithelialer Wachstumsfaktor-Rezeptor
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ERA	Endothelinrezeptor-Antagonisten
ET-1	Endothelin-1
ETAR	Endothelin-A-Rezeptor
ETBR	Endothelin-B-Rezeptor
EULAR	European League Against Rheumatism
EUSTAR	European Scleroderma Trials and Research group
FEV1	Einsekundenkapazität
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktoren
FVC	forcierte expiratorische Vitalkapazität
GF	Wachstumsfaktoren
GFR	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
GF-R	Wachstumsfaktorrezeptoren
GI	gastrointestinal
GPCR	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren
HC	Gesundkontrollen
HGF	Hepatozyten-Wachstumsfaktor
HGFR	Hepatozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor
ICD	International Classification of Diseases
IL	Interleukin
IMBS	Institut für Medizinische Biometrie und Statistik
KCO	Krogh-Index (TLCO/ Alveolarvolumen)
KHK	Koronare Herzkrankheit
LIED	Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie
ISSc	limitiert-kutane Verlaufsform

LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
M1R	Muskarinrezeptor 1
M2R	Muskarinrezeptor 2
M3R	Muskarinrezeptor 3
M4R	Muskarinrezeptor 4
M5R	Muskarinrezeptor 5
mRSS	modified Rodnan skin score
MSE	mean squared error
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
PAH	pulmonal-arterielle Hypertonie
PAR1	Protease-aktivierter Rezeptor 1
PAR2	Protease-aktivierter Rezeptor 2
PAR3	Protease-aktivierter Rezeptor 3
PAR4	Protease-aktivierter Rezeptor 4
PC	Hauptkomponente
PCA	Hauptkomponentenanalyse
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PDE-5-I	Phosphodiesterase-5-Inhibitoren
PDGF	Platelet-derived growth factor
PDGF-AA / PDGFA	Platelet-derived growth factor-AA
PDGF-BB	Platelet-derived growth factor-BB
PIGF	plazentarer Wachstumsfaktor
RF	Random Forest
RMSE	Root Mean Square Error
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
RVEF	rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
Sci-70-Ak	Anti-Topoisomerase-I-Antikörper

sENG	lösliches Endoglin
sPAP	systolischer Pulmonalarteriendruck
SSc	systemische Sklerose
TAPSE	tricuspid annular plane systolic excursion
TLCO	pulmonaler Transferfaktor für Kohlenmonoxid
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
U-Test	Mann-Whitney-U-Test
Vcin	inspiratorische Vitalkapazität
VEGF	vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktoren
VEGF-A / VEGFA	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor-A
VEGF-R1 / VEGFR1	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktorrezeptor 1
VEGF-R2 / VEGFR2	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktorrezeptor 2
VHF	Vorhofflimmern

1 Einleitung und Fragestellung

1.1 Systemische Sklerose

Systemische Sklerose (SSc) ist eine schwere chronische Autoimmunerkrankung aus dem Formenkreis der Kollagenosen. Die Kerncharakteristika sind Fibrose der Haut und der inneren Organe sowie eine Vaskulopathie [35]. Trotz verbesserter diagnostischer und therapeutischer Möglichkeiten führt die Erkrankung zu einer hohen Morbidität und herabgesetzten Lebensqualität [35,39,45]. Die Lebenserwartung ist mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von 75 % nach Diagnosestellung deutlich reduziert [108].

1.1.1 Definition und Epidemiologie

Abhängig von Region und Ethnizität unterscheiden sich die Prävalenz und Erkrankungsschwere [25]. Für Europa schwanken die Inzidenzangaben zwischen 19 und 40 pro Million bei ansteigender Tendenz. Frauen erkranken meist im mittleren Lebensalter und sind bei einem Geschlechterverhältnis von 5:1 wesentlich häufiger betroffen [4,6,16]. Männer erkranken erfahrungsgemäß schwerer und leiden verhältnismäßig oft unter Manifestationen an den inneren Organen [95].

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Ätiopathogenese ist komplex, der genaue Mechanismus ist unbekannt und Gegenstand aktueller Forschung. Es wird eine zugrunde liegende genetische Prädisposition angenommen, welche im Zusammenspiel mit endogenen und exogenen Auslösern zu epigenetischen Veränderungen und dem Ausbruch der Erkrankung führen kann [33].

Hinweisend auf eine genetische Prädisposition ist das gehäufte Erkrankungsvorkommen innerhalb von Familien [7]. In einer genomweiten Assoziationsstudie konnten Polymorphismen für humane und nicht humane Leukozyten-Antigene identifiziert werden. Diese Polymorphismen unterscheiden sich abhängig von der Erkrankungsmanifestation und dem Vorliegen von SSc-spezifischen Autoantikörpern [50]. Als Umweltfaktoren werden unter anderem Lösungsmittel, Bleomycin und Rauchen diskutiert [11].

Die Pathogenese ist durch folgende traditionelle Schlüsselmechanismen gekennzeichnet: Vaskulopathie der kleinen Gefäße, Autoimmunität sowie eine

Regulationsstörung der Fibroblasten mit exzessiver Kollagenproduktion. Eine komplexe pathophysiologische Interaktion zwischen Endothel, Bindegewebe, Zielorganen, angeborenem und erworbenem Immunsystem wird angenommen [18].

1.1.2.1 Endotheldysfunktion

In der früheren Erkrankungsphase stehen Gefäßveränderungen sowie inflammatorische Prozesse im Vordergrund. Als initiiertes Ereignis wird eine Endothelzellschädigung angenommen, die eine biologische Kaskade resultierend in einer Vaskulopathie auslöst [1]. Die vasoaktiven Faktoren geraten zugunsten der Vasokonstriktoren wie Endothelin-1 (ET-1) aus dem Gleichgewicht. Eine Störung der endothelialen Barriere führt zu einer erhöhten Kapillarpermeabilität und zur Migration von Thrombozyten und Entzündungszellen. Diese schütten ihrerseits Mediatoren wie Interleukine und Chemokine aus [33].

1.1.2.2 Immunsystemdysregulation

Das Immunsystem wird durch die Endothelschädigung aktiviert. Aufgrund einer pathologischen Veränderung des Immunsystems, die sowohl den angeborenen als auch den erworbenen Teil betrifft, wird der begonnene Inflamationsprozess nicht physiologisch terminiert [33]. Dabei spielt neben veränderten T-Zellen und dendritischen Zellen die Produktion verschiedener Autoantikörper (Ak) eine große Rolle. Obwohl die SSc typischen extrahierbaren antinukleären Anti-Centromer-Antikörper (CENP-B-Ak) und Anti-Topoisomerase-I-Antikörper (Scl-70-Ak) sehr spezifisch für die Diagnose der SSc sind, ist noch kein direkter zur Pathogenese beitragender Effekt bekannt [94]. Die Evidenz für das Vorliegen weiterer funktioneller Antikörper ist in den letzten Jahren stetig gestiegen und wird in Kapitel 1.4 besprochen.

1.1.2.3 Fibrose

Später im Krankheitsverlauf treten die obliterierende Vaskulopathie und Fibrose in den Vordergrund. In der Entstehung der Fibrose spielen Apoptose-resistente Myofibroblasten eine wichtige Rolle. Sie produzieren profibrotische Mediatoren wie den transformierenden Wachstumsfaktor- β und extrazelluläre Matrixproteine, welche sich im Gewebe ablagern. Die gesteigerte progressive Ablagerung führt zu mechanischem Stress. Dieser trägt neben dem nicht terminierten Immunsystem und der Apoptose-Resistenz zu einer chronischen Fibroblasten-Aktivierung bei [18].

1.1.3 Klinisches Bild

Häufigstes Erstsymptom der SSc ist das Raynaud-Syndrom, weitere Organmanifestationen treten meist innerhalb der ersten fünf Jahre auf [65].

Neben einer Hautbeteiligung, von welcher sich die synonym zur SSc verwendete Bezeichnung „Sklerodermie“ (griechisch: harte Haut) ableitet, manifestiert sich die Krankheit multisystemisch, dabei sind neben organspezifischen Beteiligungen auch uncharakteristische Symptome wie das Fatigue-Syndrom möglich [35].

1.1.3.1 Verlaufsform

Die SSc kann anhand der LeRoy-Kriterien in eine diffus-kutane (dSSc) und eine limitiert-kutane (lSSc) Verlaufsform eingeteilt werden, wobei die dSSc bei einem Verhältnis von 2:3 seltener vorkommt. Das diagnostische Hauptkriterium für eine dSSc ist eine Hautbeteiligung proximal der Ellbogen- bzw. Kniegelenke, wohingegen die lSSc nur die Haut distal dieser Gelenke befällt [79].

An der dSSc erkrankte Patienten leiden häufiger an Organmanifestationen und haben dementsprechend ein höheres Risiko für einen schweren Krankheitsverlauf und eine erhöhte Mortalität [65,79,95]. Bei ungefähr 30 % finden sich Scl-70-Ak. Die lSSc verläuft gewöhnlich milder, bei etwa 70 % sind CENP-B-Ak nachweisbar [79]. Overlap-Syndrome zu anderen rheumatischen Erkrankungen wie Myositis oder rheumatoider Arthritis können bei beiden Verlaufsformen auftreten [4,79].

1.1.3.2 Hautbeteiligung

Hautfibrose ist das Kennzeichen der systemischen Sklerose, die Hautverdickung wird mittels des modified Rodnan skin score (mRSS) quantifiziert. Dafür werden an 17 Hautregionen auf standardisierte Weise die Hautdicke von 0 (normal) bis 3 (schwer) beurteilt und die Werte addiert [68]. Eine Verschlechterung der Hautfibrose ist bei der dSSc mit einem Progress der Erkrankung und Erhöhung der Mortalität assoziiert [127].

Als klinisches Zeichen einer auf vaskulärer Schädigung beruhenden kritisch akralen Minderperfusion können akrale Ulcera, Nekrosen, Gangrän sowie grubchenförmige Narben, sogenannte pitting scars, auftreten [88,110].

1.1.3.3 Beteiligung der inneren Organe

Der Hauptanteil an SSc-bedingten Todesfällen war in verschiedenen Studien auf die Beteiligungen von Lunge und Herz einschließlich der pulmonal-arteriellen

Hypertonie (PAH) zurückzuführen, diese Organbeteiligungen haben somit eine große prognostische Relevanz [39,120].

Die progressive Lungenfibrose betrifft etwa 40 % der SSc-Patienten [53]. Sie kann in der Thorax-Bildgebung mittels Röntgen oder Computertomografie (CT) diagnostiziert werden. Weitere Hinweise sind eine früh eingeschränkte Diffusionskapazität und eine restriktive Ventilationsstörung in der Lungenfunktion [95]. Die Diffusionskapazität wird dabei über den pulmonalen Transferfaktor für Kohlenmonoxid (TLCO) und den Krogh-Index (KCO) sowie die Restriktion über die forcierte expiratorische Vitalkapazität (FVC) geschätzt [8].

Eine Herzbeteiligung tritt bei circa 20 % der SSc-Patienten auf und bleibt meist lange klinisch stumm [90,109]. Sie kann sich in Form einer diastolischen Dysfunktion, reduzierter linksventrikulärer (LVEF) oder rechtsventrikulärer (RVEF) Ejektionsfraktion sowie einem Perikarderguss in der Echokardiografie (Echo) äußern. Auch Herzrhythmusstörungen, erhöhtes Troponin T und N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) können auf eine Herzbeteiligung hinweisen [14,90,110]. Eine entzündliche Herzmuskelbeteiligung kann bildmorphologisch in der kardialen Magnetresonanztomographie durch ein Myokardödem, eine späte Kontrastmittelanreicherung (late enhancement) und eine myokardiale Fibrose nachgewiesen werden [86]. Differenzialdiagnosen wie eine ischämische Myokardschädigung bei koronarer Herzkrankheit (KHK) oder eine infektiöse Ursache müssen ausgeschlossen werden.

Die PAH betrifft ungefähr 15 % der SSc-Patienten und tritt eher spät im Erkrankungsverlauf auf. Im Unterschied zu den anderen Organbeteiligungen, die häufiger bei der dSSc vorkommen, betrifft die PAH beide Verlaufsformen gleich oft [95]. Die PAH-Diagnosesicherung erfolgt mittels Rechtsherzkatheter [31]. Hinweisend sind ein Anstieg des NT-proBNP, ein erhöhter systolischer Pulmonalarteriendruck (sPAP) und Rechtsherzbelastungszeichen in der Echokardiografie sowie ein isolierter Abfall der Diffusionskapazität in der Lungenfunktion [31,110]. Zur Beurteilung der Rechtsherzbelastung kann die tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) hilfreich sein.

Neben den kardiopulmonalen Manifestationen manifestiert sich die SSc typischerweise auch an Gastrointestinal (GI-)Trakt, Niere und Bewegungssystem. Das Bewegungssystem ist häufig früh, teilweise schon vor Auftreten des Raynaud-Syndroms betroffen [112]. Typische Gelenkmanifestationen sind Synovitis,

Sehnenreiben, Kontrakturen und Arthritis, dabei sind am häufigsten die Hände betroffen. Muskulär tritt vor allem eine Schwäche, fakultativ einhergehend mit einer Creatinkinase (CK)-Erhöhung, auf. Eine Beteiligung des muskuloskelettalen Systems ist mit schwerem Erkrankungsverlauf assoziiert [10].

Auf eine renale Beteiligung können eine Erniedrigung der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (GFR) sowie eine Proteinurie hindeuten, diese sind zudem mit erhöhter Morbidität assoziiert [95]. Als renale Krise ist eine thrombotische Mikroangiopathie mit akzelerierter Hypertension und akutem Nierenversagen definiert, diese betrifft etwa 5 % der SSc-Patienten [100].

Der gesamte GI-Trakt kann früh von der SSc befallen sein, wobei die häufigsten Symptome Schluckstörung, Meteorismus, Schmerzen und Sodbrennen sind [111]. Schwere GI-Beteiligungen können zu einem Malabsorptionssyndrom mit Unterernährung und Gewichtsverlust, Diarrhoen und Inkontinenz führen [35,111].

1.1.4 Diagnose

Für ein gutes Management in der Behandlung der SSc ist eine frühzeitige Diagnosestellung und die rechtzeitige Identifikation von Organbeteiligungen beziehungsweise deren Risikostratifizierung entscheidend [72]. Zur Diagnosestellung können die Klassifikationskriterien des American College of Rheumatology (ACR) und der European League Against Rheumatism (EULAR) (ACR/EULAR-Kriterien) hilfreich sein [58]. Anschließend sollten die Patienten ein systematisches regelmäßiges Screening zur frühen Identifikation von Komplikationen erhalten [57]. Die Überlebenszeit wird durch ein solches Vorgehen substantiell erhöht [96].

1.1.5 Therapie

Trotz des besseren Verständnisses der Pathophysiologie ist bis heute keine kurative Behandlung verfügbar [18]. Zentraler Therapieansatz zur Behandlung der entzündlichen Manifestationen ist eine Immunsuppression. Die Auswahl der passenden Medikamente richtet sich nach Erkrankungsschwere und -aktivität sowie den Komorbiditäten [2,35,110]. Bei vaskulopathischen Manifestationen wird als zusätzlicher Therapiebaustein eine vasoaktive Therapie (vasodilatatorische Kalziumkanalblocker, Prostanoiden, ACE-Hemmer) empfohlen [72,110]. Weiterhin können gezielt krankheitsmodifizierende Medikamente wie beispielsweise die ERA

eingesetzt werden [110]. Ein antifibrotischer Therapieansatz wurde mit Nintendanib erst kürzlich nach Abschluss der Datenerhebung dieser Arbeit im Jahr 2020 zugelassen.

1.2 G-protein-gekoppelte Rezeptoren

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) gehören zur Gruppe der 7-Transmembranproteine und sind Bestandteil einer der größten Familien integraler Membranproteine im menschlichen Organismus. Sie werden unter anderem von Endothelzellen, Fibroblasten und verschiedenen Immunzellen exprimiert. Die GPCR sind in eine Vielzahl physiologischer und pathologischer Prozesse involviert und tragen wesentlich zur Regulation der Homöostase und der Reaktion auf Umwelteinflüsse bei [20,56]. Die flexible Reaktion auf fluktuierende Umweltfaktoren basiert auf ihrer Fähigkeit, variable Liganden zu binden, ihre Konformation zu verändern, ihre Membranexpression hoch oder herunter zu regulieren und mit anderen Proteinen und Rezeptoren einen Komplex zu bilden, der Homo- oder Heterodimere bildet [106]. Infolgedessen interagieren GPCR funktionell mit einem breiten Spektrum extrazellulärer und intrazellulärer Proteine, einschließlich Signalmolekülen sowie anderen Membranproteinen [106].

Zu den GPCR gehören unter anderem Adrenozeptoren, Muskarinrezeptoren, Angiotensinrezeptoren, Endothelinrezeptoren, Protease-aktivierte Rezeptoren, Komplementrezeptoren und CXC-Motiv-Chemokin-Rezeptoren.

Adrenozeptoren sind in das autonome Nervensystem involviert. Sie regulieren die sympathischen und parasympathischen Reaktionen und beeinflussen somit den Energiestoffwechsel, die Aktivierung des Immunsystems, die Herzmuskelaktivität und die neurokognitive Funktion [17]. Abhängig von Aufbau, Vorkommen und der spezifischen Wirkung unterscheidet man zwischen den Alpha-1- (ADRA1), Alpha-2-(ADRA2), Beta-1- (ADRB1) Beta-2- (ADRB2) und Beta-3-Adrenozeptoren.

Muskarinrezeptoren sind wichtig für die neurologische und neuromuskuläre Transmission [17]. Sie finden sich an parasympathischen postganglionären Neuronen und an sympathischen Fasern, die Schweißdrüsen innervieren. Neben ihren klassischen Lokalisationen werden Muskarinrezeptoren auch von Immunzellen exprimiert [47]. Abhängig von Funktion, Aufbau und Lokalisation werden fünf Rezeptorklassen unterschieden: Muskarinrezeptoren 1-5 (M1R-M5R).

Angiotensin II, das wichtigste biologisch aktive Peptid des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, vermittelt seine Effekte vorrangig durch Bindung an den Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptor (AT1R). Hämodynamisch bewirkt es eine Blutdrucksteigerung, daneben sind eine proliferative, proinflammatorische und profibrotische Wirkung beschrieben [12,51].

Endothelin wirkt über den Endothelin-A-Rezeptor (ETAR) und Endothelin-B-Rezeptor (ETBR). ETAR werden hauptsächlich an glatter Gefäßmuskulatur und im Bindegewebe exprimiert und vermitteln analog zu AT1R eine Vasokonstriktion sowie proliferative, profibrotische und proinflammatorische Effekte. ETBR werden hauptsächlich auf vaskulären Endo- und Epithelzellen exprimiert, die Effekte sind divers und gewebeabhängig, häufig opponieren sie die Wirkung des ETAR [46]. In der SSc wurde eine erhöhte Aktivierung der Angiotensin- und Endothelin-Achsen beschrieben, ihre Herabregulierung wird in der Therapie vaskulopathischer Komplikationen genutzt [72].

Die Familie der Protease-aktivierten Rezeptoren umfasst die Protease-aktivierten Rezeptoren 1-4 (PAR1 - PAR4). Sie spielt eine wichtige Rolle in der Regulation von Immunsystem und Entzündungsprozessen, aber auch in der Angiogenese und Genregulation. Thrombin ist ein wichtiger Aktivator für PAR1, PAR3 und PAR4. Der Protease-aktivierte Rezeptor 2 wird unter anderem über den Faktor Xa aktiviert [116]. In der Pathogenese der SSc wird ein Einfluss von PAR1 und PAR2 auf fibrotische Prozesse angenommen [22,26,98].

Die löslichen Entzündungsmediatoren C3aR und C5aR gehören zur gemeinsamen Endstrecke des Komplementsystems, einem Teil der angeborenen Immunabwehr [122]. Über ihre Rezeptoren Complement component 3a Rezeptor (C3aR), Complement component 5a Rezeptor 1 (C5aR) und 2 vermitteln sie zytokinähnliche Eigenschaften und verbessern die Leukozytenrekrutierung und Entzündungsreaktion des Wirtes [99]. Komplementvermittelte Gewebeschädigung ist bei diversen Autoimmunerkrankungen beschrieben. Die Bestimmung der Komplementfaktoren C3c und C4 gehört zur erweiterten Autoimmundiagnostik, ein erhöhter Verbrauch deutet auf eine aktive Erkrankung hin [122].

CXC-Motiv-Chemokin-Rezeptoren werden von Zellen des Immunsystems exprimiert und haben eine regulatorische Funktion. Der CXC-motiv-Chemokin-3-Rezeptor (CXCR3) ist Zielstruktur des Plättchenfaktors 4. Bei SSc-Patienten sind

die Level des Plättchenfaktors 4 erhöht und mit schwerer Erkrankung assoziiert [5]. Ein Beitrag zur Entzündung über Chemokin-Signalwege wird angenommen [75]. CXC-motiv-Chemokin-4-Rezeptoren (CXCR4) spielen neben ihrer immunregulatorischen Funktion eine essenzielle Rolle in der Tumorentstehung und Metastasierung [128].

1.3 Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktorrezeptoren

Neben den GPCR spielen Wachstumsfaktoren (GF) und deren Rezeptoren (GF-R) eine zentrale Rolle in der Regulation von Proliferation und Differenzierung verschiedener Zelltypen [62]. Zu den Wachstumsfaktoren gehören vaskuläre endotheliale-, epitheliale-, Hepatozyten-, Fibroblasten-, und Platelet-derived – GF.

Der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) VEGF-A nimmt über Bindung an seine Rezeptoren VEGF-R1 und VEGF-R2 eine wichtige Rolle ein in der Regulation der Angiogenese, Gefäßpermeabilität und Inflammation. Bei der SSc sind eine antiangiogenetische Splice-Variante des VEGF-A und ihre Rezeptoren überexprimiert [37,84]. Neben den VEGF-Molekülen gehört auch der plazentare Wachstumsfaktor (PlGF) zur VEGF-Familie [62].

Platelet-derived growth factors (PDGF) stimulieren Fibroblasten, fördern die Chemotaxis und verbessern die Myofibroblasten-Differenzierung. Insgesamt sind vier verschiedene PDGF-Ketten (PDGF-A bis PDGF-D) bekannt, welche sich zu Homodimeren und Heterodimeren zusammen lagern (PDGF-AA, -BB, -CC, -DD, PDGF-AB). Für PDGF-A und PDGF-B sind Überexpression und profibrotische Wirkung als zentrale Faktoren in der SSc-Pathogenese beschrieben [38].

Der epitheliale Wachstumsfaktor (EGF) ist über Bindung an seinen Rezeptor (EGFR) wichtig für die Proliferation und Differenzierung von Fibroblasten der Haut und die Induktion von Komponenten der extrazellulären Matrix bei Wundheilung. Bei der SSc sind die EGFR Expression und Bindungsaffinität des EGF reduziert [43].

Der Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF) verbessert über Bindung an seinen Rezeptor (HGFR) die Angiogenese, die Immunantwort, die Zellmotilität und die Zelldifferenzierung. Daneben ist ein antifibrotischer und antiinflammatorischer Effekt

beschrieben [93]. In der SSc sind HGF und sein Rezeptor hochreguliert, dies wird als biologischer Feedbackmechanismus auf die SSc-Fibrose diskutiert [67].

Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF) sind eine Familie aus 23 Signalmolekülen, die über Rezeptor-Tyrosinkinasen intrazelluläre Wirkungen vermitteln. Für SSc-Patienten wurde nachgewiesen, dass einige dieser Signalmoleküle, wie unter anderem FGF-2 und FGF-9 hochreguliert sind und somit profibrotische Signalwege gefördert werden [23,28,61,66].

1.4 Autoantikörper gegen GPCR und verwandte Moleküle

Autoantikörper richten sich gegen körpereigene Zielstrukturen und sind Teil des adaptiven Immunsystems [106]. Als klassische Merkmale von Autoimmunerkrankungen können sie häufig schon Jahre vor Auftreten der Erkrankung detektiert werden [52]. Aber auch bei Gesunden ist das Auftreten von Autoantikörpern nachgewiesen [19]. Gegen GPCR, GF und GF-R gerichtete Ak gehören zur Immunglobulin G Klasse [20,105,126]. Solche Ak werden mithilfe von T-Zell-Hilfe und Klassenwechsel gebildet. Es wird angenommen, dass diese Zeit beanspruchenden Faktoren dazu führen, dass die Ak weniger empfindlich gegenüber akuten Umweltfaktoren sind als die GPCR selbst und GPCR-Ak somit den chronischen GPCR-Expressions- und Aktivierungsstatus widerspiegeln [106]. In unabhängigen Studien konnten immunpathologische Modulationen verschiedener Erkrankungen durch gegen GPCR gerichtete, funktionelle Ak nachgewiesen werden [19]. Die Einteilung eines Ak in „funktionell“ und „nicht-funktionell“ erfolgt anhand der Bindungsstelle und der physiologischen Effekte auf die Zelle [20,52]. Funktionelle Ak können die intrazellulären Signalkaskaden beeinflussen. Der Effekt kann stimulierend, inhibitorisch oder synergistisch sein [124].

Physiologische endogene Liganden führen bei GPCR-Aktivierung zu einer Rezeptordesensibilisierung und Internalisierung, sodass eine erneute Stimulation erschwert ist. Bei Aktivierung durch agonistische Autoantikörper erfolgen diese Prozesse nicht immer, eine permanente Aktivierung ist möglich [19,20,124]. Umgekehrt können antagonistische Ak eine permanente Blockierung bewirken und synergistische Ak die Wirkung der physiologischen Liganden verstärken [124].

Das bekannteste Beispiel funktioneller Ak findet sich beim Morbus Basedow, bei welchem sich funktionelle Ak gegen den Thyreotropin-Rezeptor richten und durch ihre stimulierende Wirkung eine Hyperthyreose auslösen [71]. Bei der SSc wurde die erste funktionelle Wirkung für gegen den PDGF-Rezeptor gerichtete Ak nachgewiesen. Diese führen, verglichen mit endogenen Liganden, zu einer verlängerten Rezeptorstimulation und erhöhten Kollagenexpression [38,118]. Weitere gut charakterisierte funktionelle Ak bei der SSc richten sich gegen AT1R und ETAR, für die eine profibrotische und proinflammatorische Wirkung sowohl in vitro als auch in vivo im Mausmodell gezeigt werden konnte [19,69]. Die CXCR3-Ak binden an verschiedene Epitope bei Gesunden und der systemischen Sklerose, was ebenfalls auf einen unterschiedlichen Effekt der Ak hindeuten könnte [105].

1.4.1 Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke

Neuere Studien haben gezeigt, dass zahlreiche Autoantikörper im Sinne eines Netzwerkes, zu dem neben GPCR-Ak auch GF-Ak und GF-R-Ak gehören, miteinander wechselwirken. Dieses Netzwerk ist sowohl bei Gesunden als auch bei verschiedenen Autoimmun- und Nichtautoimmunerkrankungen nachzuweisen und bildet in den Korrelationsmustern und hierarchischen Analysen, abhängig von der Erkrankung und weiteren Faktoren wie Alter und Geschlecht, verschiedene Signaturen aus. Diese Signaturen reflektieren die unterschiedlichen Verteilungsmuster der Autoantikörper abhängig von der untersuchten Gruppe [19]. In Gesunden korrelieren beispielsweise die Autoantikörper-Level strukturell ähnlicher Moleküle wie PAR1 und PAR2 sowie M1R-M4R untereinander. Bei der SSc und anderen rheumatischen Erkrankungen sind einige dieser Korrelationen sowie Beziehungen zu weiteren GPCR-Ak und GF/-R-Ak im Vergleich zu Gesunden verändert bis aufgehoben [19]. Als zusammenfassender Begriff für das physiologische Ak-Netzwerk mit GPCR-Ak als zentralen Akteuren wird der Begriff „Antibodiom“ vorgeschlagen [106].

1.4.2 Autoantikörper-Level als Erkrankungsmarker

Für einige der gegen GPCR gerichteten Ak sind die Level bei Erkrankung verändert und haben einen prädiktiven Wert zur Vorhersage von Krankheitsmanifestationen. Bei der SSc liegen erhöhte Level für AT1R-Ak und ETAR-Ak vor. Diese sind prädiktiv für die Entstehung von Spätkomplikationen der SSc wie PAH und digitale

Ulcera sowie für eine erhöhte Mortalität [107]. Auch CXCR3-Ak und CXCR4-Ak sind bei der SSc erhöht und haben einen prädiktiven Wert zur Vorhersage der Progression der Lungenfibrose [126]. Weiterhin wurden erhöhte Level von PAR1-Ak und PAR2-Ak bei der SSc nachgewiesen, wohingegen Level für M3R-Ak und M4R-Ak in SSc-Patienten niedriger als bei Gesundkontrollen waren [19].

Auch bei weiteren Autoimmun- und Nichtautoimmunerkrankungen sind die Level der GPCR-Ak verändert und mit Erkrankungsmanifestationen assoziiert. So wurden unter anderem beim Chronischen Fatigue Syndrom hohe Level für M1R-Ak, M3R-Ak, M4R-Ak und ADRB2-Ak nachgewiesen [80,114], M1R-Ak, M2R-Ak, M3R-Ak, PAR1-Ak und PAR2-Ak sind bei der Granulomatose mit Polyangiitis erniedrigt [19] und für ADRB1-Ak sind veränderte Level bei der Kardiomyopathie und dem akuten Koronarsyndrom bekannt [20,41]. Bei Alzheimerpatienten ergab eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) des Autoantikörperprofils vier Gruppen von Assoziationen zwischen Ak und klinischen Manifestationen. Eine dieser Gruppen zeigte einen Zusammenhang zwischen erhöhter Mortalität und einem Netzwerk von zehn Autoantikörpern, welche vorwiegend gegen Dopamin- und Serotoninrezeptoren gerichtet waren [48].

1.5 Fragestellung der Arbeit

Die Variabilität im klinischen Phänotyp zeigt den Bedarf an präziseren prognostischen Biomarkern. Eine verbesserte Vorhersage des Krankheitsverlaufs könnte zu früheren und effektiveren Interventionen führen, um tödliche oder behindernde Krankheitskomplikationen zu verhindern. Damit wäre ein wichtiger Schritt in Richtung personalisierte oder Präzisionsmedizin getan [115].

In dieser Arbeit soll mittels bioinformatischer und biostatistischer Methoden eine Validierung des beschriebenen Netzwerks von gegen GPCR und verwandte Moleküle gerichteten humanen Immunglobulin-G-Ak bei der SSc im Vergleich mit HC erfolgen [19]. Darüber hinaus sollen die Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke bei verschiedenen SSc-Phänotypen wie Lungenfibrose oder SSc-Verlaufsform bestimmt werden. Zudem sollen der Verlauf und die Schwere der systemischen Sklerose anhand der Abundanz verschiedener Autoantikörper mittels maschinellen Lernverfahren stratifiziert werden. Weiterführend soll ein multivariater, prädiktiver Biomarker entwickelt werden, der das klinische Outcome und mögliche Behandlungs-Optionen vorhersagen kann.

2 Patienten, Material und Methoden

2.1 Ethikvotum

Ein entsprechendes Ethikvotum vom 14.11.2016 unter dem Aktenzeichen „Az 16-199“ mit dem Titel „Identifikation und Charakterisierung von neuen Biomarkern bei entzündlichen Systemerkrankungen“ liegt vor (Anhang 7.1).

2.2 Patienten-Einschlusskriterien

In die retrospektive Analyse wurden Patienten mit der Diagnose „Systemische Sklerose“ aus dem Patientenregister des Deutschen Netzwerks für Systemische Sklerodermie (DNSS) eingeschlossen, die sich zwischen dem 17.06.2015 und 28.08.2018 in der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck (UKSH) vorgestellt und Forschungsblut gespendet haben. Weitere Voraussetzung für den Einschluss in die Studie war das Vorliegen eines Arztbriefes zum Probenentnahmezeitpunkt $\pm$ drei Monaten. Ausgeschlossen wurden Patienten, für die das Autoantikörpernetzwerk in einer vorherigen Untersuchung der Arbeitsgruppe gemessen worden war [13].

2.3 Klinische Patienten-Charakterisierung

Epidemiologische und klinische Parameter sowie Medikation und Komorbiditäten wurden retrospektiv zum Zeitpunkt der Probenentnahme aus den digitalen Patientenakten erhoben. Dabei wurden bevorzugt die Daten des Probenentnahmestichtags $\pm$ drei Monaten verwendet. Abhängig von der klinischen Einschätzbarkeit wurden fehlende Angaben der qualitativen Parameter sowie für Echo und Lungenfunktion aus den Diagnosen und Befunden inter- oder extrapoliert.

2.3.1 SSc-Verlaufsform

Die Einteilung in diffus-kutane SSc und limitiert-kutane SSc erfolgte anhand der LeRoy-Kriterien [79]. Patienten mit einem zusätzlichen Overlap-Syndrom wurden den SSc-Formen zugeordnet und nicht gesondert ausgewertet.

2.3.2 Demografische Daten und Komorbidität

Von den Patienten wurden folgende demografische Daten erfasst:

Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe, Body-Mass-Index (BMI), Adipositas (BMI ≥ 30), Untergewicht (BMI < 20) Gewichtsabnahme ($> 2,5$ kg), Raucherstatus inklusive pack years, Erkrankungsdauer.

Es wurden folgende Komorbiditäten erhoben, dabei wurden ausschließlich die nach International Classification of Diseases (ICD) verschlüsselten Diagnosen berücksichtigt:

Overlap-Syndrome (Rheumatoide Arthritis, sekundäre Fibromyalgie, systemischer Lupus erythematoses, (Poly-) Myositis), Autoimmunerkrankungen (u. a. Autoimmunthyreoiditis), kardiovaskuläre Komorbiditäten (Angina Pectoris, arterielle Hypertonie, Arteriosklerose, KHK, Vorhofflimmern (VHF), Dys-/ Hyperlipoproteinämie), neurologische Komorbiditäten (Schwindel, Restless Legs), Depression, Osteopenie/-porose, Arthrose, Fatigue, maligne Tumoren.

2.3.3 ACR/EULAR – Kriterien

Die ACR/EULAR-Kriterien dienen als Klassifikationskriterien der SSc zum Studieneinschluss. Sie gelten bei einem summierten Punktwert ≥ 9 als erfüllt und wurden wie nachstehend (Tab. 2-1) berechnet. Alle Kriterien wurden zusätzlich als Einzelitems erfasst [58].

Tabelle 2-1: ACR/EULAR-Kriterien nach Hoogen et. al. (2013) [58]

Kriterien	Subkriterien	Wichtung
Hautverdickung der Finger	Hautfibrose proximal der Metakarpophalangealgelenke beidseits (Befall über die Finger hinaus)	9
<i>Oder</i>		
Hautverdickung der Finger (nur höchste Punktzahl zählt)	Fingerödem („puffy fingers“)	2
	Nur Sklerodaktylie ganzer Finger (distal der Metakarpophalangealgelenke)	4
Läsionen der Fingerspitze (nur höchste Punktzahl zählt)	Digitale Ulzera	2
	Grübchen („pitting scars“)	3
Teleangiektasien	-	2
Pathologische Kapillarmikroskopie (avaskuläre Felder, Megakapillaren)	-	2
PAH und/oder Lungenfibrose	-	2
Raynaud-Phänomen	-	3
SSc-spezifische Ak (CENP-Ak, Scl70-Ak, Polymerase-III-Ak)	-	3

2.3.4 EUSTAR-Aktivitätsindex

Der modifizierte EUSTAR-Aktivitätsindex (EUSTAR: European Scleroderma Trials and Research group) wurde nach Valentini et al. (Tab. 2-2) berechnet und eine aktive Erkrankung bei einem Indexwert $\geq 2,5$ angenommen [121].

Tabelle 2-2: Modifizierter EUSTAR-Aktivitätsindex nach Valentini et al. (2017) [121]

Modifizierter EUSTAR-Aktivitätsindex		Gewichtung
Δ -Haut	Verschlechterung der Hautmanifestation	1,5
Digitale Ulzera	Aktive digitale Ulzera (kleine Stellen bis Gangrän)	1,5
mRSS [22] > 18	Hautdicke auf einer Skala von 0 (normal) bis 3 (schwere Veränderung) (0-51)	1,5
Sehnenreiben	Sehnenreiben palpabel	2,25
C-reaktives Protein (CRP)	> 1 mg/dL	2,25
TLCO	< 70 % des prädiktiven Werts	1,0
Summe $\geq 2,5$ zeigt eine aktive Erkrankung		

2.3.5 Organbeteiligung

Die Organbeteiligungen an Herz, Lunge (Lungenfibrose und PAH), GI-Trakt und Bewegungssystem wurden vorrangig anhand der ICD-kodierten Diagnoseliste erhoben. Außerdem wurde von einer Organbeteiligung ausgegangen, wenn die Zusammenschau der Befunde eine solche nach klinischer Einschätzung wahrscheinlich machte und andere Ursachen, wie unter anderem eine ischämische Kardiomyopathie oder Vorhofflimmern, ausgeschlossen werden konnten. Zur Beurteilung einer Lungenfibrose wurden beispielsweise neben einer bereits kodierten Diagnose hauptsächlich die FVC und KCO jeweils mit einem Grenzwert von 80 % sowie die Bildmorphologie in Röntgen- und CT-Thorax herangezogen. In die Einschätzung einer Herzbeteiligung flossen insbesondere die echokardiographischen Befunde sowie NT-proBNP-Werte und Troponin T-Werte ein. Das Vorliegen einer PAH wurde ebenfalls vornehmlich anhand des Echos (u. a. erniedrigte RVEF, erhöhter sPAP), sowie der KCO-, NT-proBNP- und Troponin T-Werte beurteilt. Weitere typische Parameter, welche in die Evaluation der Organbeteiligungen und Quantifikation der Organfunktion einbezogen und zusätzlich als Subparameter ausgewertet wurden, sind in Tabelle 2-3 aufgeführt. Da abgrenzende Marker zwischen SSc-assoziierten und nicht-SSc-assoziierten Manifestationen für die renale und nervale SSc-Beteiligung fehlen und diese mit einer hohen Inzidenz in der Allgemeinbevölkerung vorkommen, wurden entsprechende Befunde ohne Zuordnung der Pathogenese erfasst.

Die Formulierung „normale TAPSE“ wurde als TAPSE $\geq$ 20 mm definiert, eine „gute LVEF“ als LVEF $\geq$ 55 %. Bei einer normalen Herzfunktion im Echo mit nicht bestimmbarem sPAP wurde der sPAP auf den anzunehmenden Normalwert von 10 mmHg festgelegt. Bei VHF wurde aufgrund der hohen Inzidenz in der Allgemeinbevölkerung [54] das NT-proBNP nicht ausgewertet. Digitale Ulzerationen, Nekrosen, Gangrän, Akroosteolysen und grübchenförmige Narben wurden zur Auswertung zusammengefasst, bei Vorliegen einer dieser Punkte wird eine „kritisch akrale Minderperfusion“ (Synonym „kritische Perfusion“) postuliert.

Tabelle 2-3: Erhobene Organfunktionsparameter in Patienten mit systemischer Sklerose

Organbeteiligung	Subparameter zur Charakterisierung
Herz & PAH	Echo: <i>diastolische Dysfunktion, LVEF, RVEF, sPAP, TAPSE</i> Labor: <i>NT-proBNP, Troponin T</i>
Lunge	Lungenfunktion: <i>TLCO, KCO, FVC, FEV1 (Einsekundenkapazität), Vcin (inspiratorische Vitalkapazität), FEV1/Vcin</i> CT/ Röntgen-Thorax: <i>Fibrose, Milchglasmuster</i> bronchoalveoläre Lavage: <i>Alveolitis</i> <i>O₂ - Pflicht</i>
Gastrointestinal-trakt	Symptome: <i>Dysphagie, Reflux, Völlegefühl, Erbrechen, Diarrhoe, Blähungen, Obstipation</i>
Bewegungssysteme	Symptome: <i>Myalgien, Arthralgien, Muskelschwäche, Morgensteifigkeit > 30 min</i> Befunde: <i>Synovitis, Sehnenreiben, Sehnenverkürzung, Akroosteolysen, Muskelatrophie, Faustschlussdefizit, Gelenkkontrakturen</i>
Renal	<i>Kreatinin, GFR, Proteinurie, renale Krise</i>
Nervensystem	<i>Polyneuropathie, Dysästhesien</i>

2.3.6 Serologische Befunde

Aus dem Routinelabor und der Autoimmundiagnostik wurden die in Tabelle 2-4 gelisteten Parameter erhoben.

Tabelle 2-4: Erhobene Routinelabor- und Autoimmundiagnostikbefunde in Patienten mit systemischer Sklerose

Routinelabor:	<i>Leukozyten, Hämoglobin, Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) C-reaktives Protein (CRP), CK, Vitamin-D3</i>
Autoimmun-diagnostik	<i>Komplement C3c und C4, Rheumafaktor, AT1R-Ak, ETAR-Ak, cyclisches citrulliniertes Peptid (CCP)-Ak, Interleukin (IL) -2 -Rezeptor</i>
Sklerodermie-Profil	<i>Antinukleäre Antikörper (ANA) (Screen, Scl-70-Ak, CENP-B-Ak, U1-RNP/Sm-Ak, Sm-Ak, Ro/SS-A-Ak, Ro 52-Ak, La/SS-B-Ak, Jo-1-Ak, Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-Ak, PM-Scl 100-Ak PM Scl 75-Ak, Ribosomales-P-Protein-Ak (ARPA), Nukleosomen-Ak, Antimitochondriale-M2-Ak (AMA M2), Mi-2-Ak, Ku-Ak, CENP-A-Ak)</i>

2.3.7 Medikation

Folgende Medikamente wurden in die Auswertung eingeschlossen, sofern sie im Medikationsplan des Patienten im Zeitraum vor Probenentnahme aufgeführt waren und zur Auswertung anhand der Kategorien aus Tabelle 2-5 zusammengefasst:

Glukokortikoide, Cyclophosphamid, Azathioprin, (Hydroxy-)Chloroquin, Methotrexat, Rituximab, Mycophenolatmofetil, Ciclosporin A, Iloprost, Endothelinrezeptor-Antagonisten (ERA), Kalziumkanalblocker, Phosphodiesterase-5-Inhibitoren (PDE-5-I), ACE-Hemmer, AT1R-Antagonisten, Betablocker, Statine, Diuretika, Vitamin D.

Tabelle 2-5: Medikamentenkategorisierung zur Auswertung

Immunsuppression (*Immunmodulation)	<i>Cyclophosphamid, Azathioprin, (Hydroxy-)Chloroquin*, Methotrexat, Rituximab, Mycophenolatmofetil, Ciclosporin A, Glukokortikoide</i>
Kombinierte Immunsuppression	<i>Rituximab + Cyclophosphamid Mycophenolatmofetil + Cyclophosphamid</i>
Vasoaktive Therapie	<i>Iloprost, Kalziumkanalblocker, PDE-5-I (ERA werden separat ausgewertet)</i>

2.3.8 Morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen

Die qualitativen klinischen Manifestationen Lungenfibrose, Herzbeteiligung, PAH und kritisch akrale Minderperfusion sind für SSc-Patienten morbiditäts- und mortalitätsbestimmend [39,95], dies gilt auch für die quantitativen Parameter FVC [95], NT-proBNP [14], sPAP [91] und mRSS [55]. Ihnen wird in der Auswertung eine besondere Relevanz zugemessen.

Um die kontinuierlichen Parameter mit statistischen Verfahren für dichotome klinische Variablen auszuwerten, wurden folgende Kriterien als pathologisch definiert: NT-proBNP oberhalb des alters- und geschlechtsabhängigen Referenzbereiches, FVC < 80 %, sPAP > 25 mmHg und mRSS > 14 (schwere Hautsklerose).

2.4 Kontrollgruppe

Als Gesundkontrollen (HC) wurden Seren des UKSH-Blutspendezentrums am Campus Lübeck verwendet. Diese wurden im Zeitraum vom 15.10.2018 bis 31.12.2018 gesammelt und unter Angabe von Alter und Geschlecht übermittelt.

2.5 Probenaufbereitung und Messung

Die Serumproben der gesunden Kontrollen und der SSc-Patienten wurden im Forschungslabor der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie des UKSH Campus Lübeck aufbereitet und bis zur Messung bei – 80 °C gelagert, die Standard Operating Procedures von Probensammlung und Aufbereitung können Anhang 7.2 entnommen werden. Die Ak wurden von der Firma CellTrend GmbH, Luckenwalde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) analog zu dem in Giil et al. 2018 beschriebenen Verfahren [48] in den Jahren 2019 und 2020 bestimmt.

Gegen folgende Antigene gerichtete Ak wurden gemessen:

GPCR:	<i>ADRA1, ADRA2, ADRB1, ADRB2; M1R, M2R, M3R, M4R, M5R; C3aR, C5aR; AT1R, ETAR, ETBR; CXCR3, CXCR4; PAR1, PAR2</i>
GFI-R:	<i>VEGF-A, VEGF-R1, VEGF-R2; PIGF; EGF, EGFR; HGF, HGFR; PDGF-AA, FGF-2</i>

In den Seren der SSc-Patienten wurden zusätzlich Level von gegen drei weitere Antigene gerichtete Ak gemessen:

GPCR:	<i>Calciumsensitiver Rezeptor (CaSR)</i>
GF:	<i>PDGF-BB</i>
Signalmolekül:	<i>lösliches Endoglin (sENG)</i>

2.6 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte mithilfe des Tabellenkalkulationsprogramms „Microsoft Excel 2016“ und der Statistikprogramme „IBM SPSS Statistics 26“, „GraphPad Prism 8“ und „R 4.0.3“. Sofern nicht anders beschrieben, wurden nur die 28 Ak in die statistische Auswertung einbezogen, die bei HC und SSc bestimmt wurden.

2.6.1 Basisstatistik als Ausgangspunkt für die Kooperationen

Die deskriptiven Statistiken umfassen für metrische Variablen Median, Maximum und Minimum. Für die nominalen Variablen wurden Absolutwerte sowie prozentuale Angaben bestimmt. Die U-Tests nach Mann-Whitney (U-Test) sowie die Spearman-Korrelationen wurden explorativ, zur Entwicklung neuer Hypothesen über die SSc-

Pathophysiologie, durchgeführt. Daher wurde nicht für multiples Testen korrigiert, und es ist anzunehmen, dass die einzelnen p-Werte Tendenzen aufzeigen, aber ihr Wert nicht überschätzt werden sollte. Zur übersichtlicheren Darstellung wurde dennoch für die U-Tests sowie die Spearman-Korrelationen folgende Darstellung der Signifikanzniveaus verwendet:

$0,01 \leq p < 0,05$: * „signifikant“;
 $p < 0,01$: ** „hochsignifikant“.

2.6.1.1 Autoantikörper und SSc-Erkrankung

Unterschiede in den Autoantikörperwerten zwischen SSc und HC und abhängig vom Geschlecht wurden mittels U-Test untersucht, für Zusammenhänge zwischen Ak und Alter wurden Spearman-Korrelationen berechnet.

Der prädiktive Wert der Autoantikörper für die SSc-Erkrankung wurde anhand von Receiver-Operating-Characteristic-(ROC) Analysen ermittelt. Für Ak, bei denen das 95 %- Konfidenzintervall des Flächeninhaltes unter der Kurve (englisch: Area Under the Curve (AUC)) oberhalb von 65 % lag, wurden mittels Youden's Index die idealen Cut-Offs zur Maximierung von Sensitivität und Spezifität berechnet.

2.6.1.2 Autoantikörper und Krankheitsmanifestationen der SSc

Assoziationen zwischen Ak und den dichotomen klinischen Manifestationen sowie Medikamenteneinnahme wurden mittels U-Tests untersucht und ausgewählte Ergebnisse anhand von Boxplots visualisiert. Für die morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Manifestationen wurde weiterführend eine ROC-Analyse zur Ermittlung des prädiktiven Wertes durchgeführt. In diese Analyse wurden auch die drei nur bei der SSc gemessenen Ak einbezogen. Der χ^2 -Test wurde verwendet, um Zusammenhänge zwischen SSc-Manifestationen und SSc-Verlaufsformen zu identifizieren.

Zusammenhänge zwischen den Ak-Leveln und den kontinuierlichen klinischen Variablen FVC, NT-proBNP, sPAP und mRSS wurden basierend auf der Rangkorrelation nach Spearman untersucht. Die klinischen Variablen wurden zudem auf Korrelationen mit dem potenziellen Störfaktor Alter untersucht.

2.6.2 Statistische Auswertung in Kooperation mit dem IMBS

Folgende Auswertungen wurden im Rahmen einer bestehenden Kooperation vom Institut für Medizinische Biometrie und Statistik (IMBS) durchgeführt:

Zur explorativen Datenanalyse wurden die Autoantikörperwerte nach Box-Cox powertransformiert, skaliert, zentriert und somit der Standardnormalverteilung angenähert. Die Lambda-Werte wurden anhand der Likelihood-Methode geschätzt. Die klinischen Daten wurden auf fehlende Werte und Gleichgewicht überprüft. Für dichotome Variablen wurden nur Parameter statistisch ausgewertet, bei denen mindestens 40 Individuen das seltenere Merkmal trugen und deren Balance über 0,2 lag. Die Balance wurde anhand der Formel berechnet:

$$\text{Balance} = \text{Merkmalsträger (\%)} * \text{Nicht-Merkmalsträger (\%)}$$

Für kontinuierliche Variablen wurde als Einschlusskriterium das Fehlen von maximal 10 % der Werte definiert. Die eingeschlossenen Parameter wurden Box-Cox powertransformiert und die fehlenden Werte multipel imputiert. Anhand von Histogrammen für den Originaldatensatz und dem imputierten Datensatz wurden die imputierten Werte auf Plausibilität überprüft.

2.6.2.1 Autoantikörper-Cluster

Als Verfahren zur Dimensionalitätsreduktion wurde eine PCA durchgeführt und das Ergebnis als Biplot und Screegraph visualisiert. Korrelationen zwischen den Ak wurden basierend auf einer Pearson-Korrelationsmatrix untersucht. Mittels hierarchischer Clusteranalyse wurden die Ak gruppiert und die Gruppen mittels Dendrogramm visualisiert. Die Gruppierung in Cluster wurde sowohl für alle Proben gemeinsam als auch separat für die SSc-Patienten und die HC durchgeführt.

2.6.2.2 Regressionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

Assoziationen zwischen SSc, klinischen Merkmalen und Autoantikörpern wurden anhand von altersadjustierten Modellen untersucht.

Zwischen dichotomen Merkmalen und Autoantikörper-Werten wurden Assoziationsrichtungen und deren Effektstärke mittels bivariabler logistischer Regressionsanalyse ermittelt. Für kontinuierliche Merkmale und Autoantikörper-Level wurde ein lineares Regressionsmodell gerechnet. Die Ergebnisse wurden mittels Parameter-Plots und den zugehörigen Konfidenzintervallen dargestellt.

2.6.2.3 Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

Die prädiktive Bedeutung der Autoantikörper-Spiegel für die SSc und dichotome klinische Merkmale wurde anhand von ROC-Analysen untersucht, als Gütekriterium wurde die AUC verwendet. Für HC versus SSc erfolgte eine einfache, nicht altersadjustierte AUC-Schätzung.

Für die klinischen SSc-Manifestationen wurde eine kreuzvalidierte, altersadjustierte Analyse durchgeführt. Die dichotomen klinischen Manifestationen wurden dafür mittels „downsampling“ in ein balanciertes Design überführt. Dies erfolgte durch die zufällige Auswahl einer Stichprobe der Größe „n“ aus der überrepräsentierten Gruppe mit $n = \text{Individuen-Anzahl in der unterrepräsentierten Gruppe}$. Anhand der balancierten Gruppen wurde die AUC altersadjustiert fünffach kreuzvalidiert geschätzt und als Boxplot dargestellt. Der Vorhersage-Schwellenwert eines Modells wurde auf eine $AUC > 65 \%$ festgelegt und bei einer Lage der gesamten Box oberhalb des Schwellenwerts ein prädiktiver Zusammenhang postuliert.

Der prädiktive Wert kontinuierlicher Merkmale wurde anhand eines linearen Regressionsmodells ermittelt und der mittlere quadratische Fehler (englisch: mean squared error (MSE)) mittels fünffacher Kreuzvalidierung altersadjustiert geschätzt. Bei Annäherung der Box an die Nulllinie wurde ein prädiktiver Wert postuliert.

2.6.3 Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke

Anhand der vom IMBS Box-Cox powertransformierten, skalierten und zentrierten Ak-Werte wurden Korrelationsmatrizen nach Pearson für die morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Manifestationen erstellt und die nach Bonferroni-Korrektur signifikanten Korrelationen als Autoantikörpernetzwerk geplottet. Diese Netzwerke wurden jeweils im Vergleich HC / SSc, HC / SSc-Manifestation und SSc-Manifestation ja/nein auf wiederkehrende Korrelationsabweichungen untersucht. Dafür wurden diejenigen Korrelationen herausgearbeitet, die im Vergleich zweier Netzwerke eine Differenz im Korrelationskoeffizienten von $> 0,4$ aufwiesen und in der Gruppe mit dem höheren Korrelationskoeffizienten nach Bonferroni-Korrektur signifikant waren.

Für wiederkehrende Korrelationsabweichungen wurden jeweils sieben Signifikanztestungen (*HC / SSc*, *HC / Lungenfibrose*; *HC / keine Lungenfibrose*; *HC / FVC < 80 %*; *HC / FVC > 80 %*; *Lungenfibrose / keine Lungenfibrose*; *FVC > 80 % / FVC < 80 %*) durchgeführt und somit das Signifikanzniveau zur

korrelationsweisen Korrektur für multiples Testen auf $p < 0,007$ festgelegt. Die Unterschiede zwischen mehrfach auffälligen Korrelationen wurden anhand des Online-Tools zum „Vergleich zweier Korrelationskoeffizienten aus unabhängigen Stichproben“ auf statistische Signifikanz getestet [78]. Das Online-Tool führt eine einseitige Testung durch, dementsprechend wurden die berechneten p-Werte zur zweiseitigen Testung verdoppelt und die Signifikanzniveaus zudem zeilenweise für multiples Testen korrigiert.

Für sich signifikant unterscheidende Korrelationskoeffizienten wurden anschließend Spearman Korrelationen der nicht normalisierten Ak-Werte berechnet und die Unterschiede ebenfalls auf Signifikanz überprüft, um Normalisierungsartefakte auszuschließen.

2.6.4 Statistische Auswertung in Kooperation mit dem LIED

Vom Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie (LIED) wurden die Ak-Werte mittels Yeo-Johnson Transformation, Skalierung und Zentrierung normalisiert. Von den klinischen Parametern wurden vorab die morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Parameter sowie die SSc-Verlaufsform ausgewählt.

2.6.4.1 Validierung der Ergebnisse des IMBS

Zur Validierung der Ergebnisse des IMBS wurden die PCA sowie die hierarchische Clusteranalyse anhand der Yeo-Johnson transformierten Ak-Werte wiederholt. Dabei wurden ausschließlich die Ak einbezogen, welche auch in einer vorherigen Kohorte der Arbeitsgruppe gemessen wurden und dementsprechend die Alpha-Adrenozeptoren aus dieser Auswertung ausgenommen.

2.6.4.2 Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

Die Beziehung zwischen Autoantikörpern und den ausgewählten klinischen Manifestationen wurde mittels drei maschinellen Lernalgorithmen untersucht:

- 1) Random Forest (RF) with grid expansion strategy
- 2) eXtreme Gradient Boosting with grid expansion strategy
- 3) Linear Support Vector Machines with Class Weights (no grid expansion strategy)

Die Analysen wurden sowohl mit den normalisierten als auch den nicht normalisierten Ak-Werten durchgeführt. Für jede Kovariate wurden fehlende Werte paarweise ausgeschlossen und die Daten in einen Trainingsdatensatz von 75 % und einen Testdatensatz mit 25 % aufgeteilt. Für kategoriale Variable wurde mittels

des Trainingsdatensatzes ein Klassifikator trainiert und dieser anhand des Testdatensatzes im Prädiktionsmodell überprüft und auf seine Treffergenauigkeit (englisch: accuracy) bewertet. Zusätzlich zur Treffergenauigkeit wurde Kappa geschätzt, das heißt die Vorhersagegenauigkeit wurde für zufällig richtig eingeordnete Treffer korrigiert. Für kontinuierliche Variablen wurde ein Regressionsansatz gewählt und anhand der Wurzel der mittleren Fehlerquadratsumme (engl. Root Mean Square Error (RMSE)) evaluiert. Die Algorithmen wurden mit 10-facher Kreuzvalidierung ausgeführt.

2.6.4.3 Autoantikörper-Hauptkomponenten und klinische Merkmale

Assoziationen zwischen den selektierten klinischen Manifestationen mit Ausnahme des sPAP und den Ak wurden zusätzlich hauptkomponentenbasiert untersucht. Dafür wurde eine PCA anhand der Yeo-Johnson transformierten Ak-Werte der SSc-Patienten durchgeführt und nach dem Kaiser-Kriterium die Hauptkomponenten mit einem Eigenwert > 1 selektiert. Für diese Hauptkomponenten wurden die Beiträge der einzelnen Ak aufgeschlüsselt und Korrelationen zu den Ak ermittelt.

Analog wurde eine PCA für diejenigen Patienten durchgeführt, bei denen für die klinischen Manifestationen SSc-Verlaufsform, Lungenfibrose, Herzbeteiligung, PAH, FVC, NT-proBNP, mRSS und kritische Perfusion ein vollständiger Datensatz ohne fehlende Angaben vorlag. Für diese PCA wurden weiterführend Biplots der klinischen Manifestationen erstellt und die Auswirkung auf die Punkteverteilung visuell beurteilt. Mögliche Zusammenhänge wurden anhand einer logistischen Regressionsanalyse auf Signifikanz und Effektstärke untersucht.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

3.1.1 Patientenkollektiv

Die Einschlusskriterien wurden von n = 177 SSc - Patienten erfüllt. Davon sind n = 59 Patienten an der dSSc und n = 118 an der ISSc erkrankt. Ausgewählte klinische Charakteristika sind in Tabelle 3-1 zusammengefasst und nachfolgend beschrieben. Weitere Angaben können Anhang 7.3 entnommen werden.

Tabelle 3-1: Übersicht klinischer Parameter der Patienten mit systemischer Sklerose

	<u>Gesamt</u> <u>(n = 177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>
Weiblich, no (%)	140 (79)	40 (68)	100 (85)
Alter [Jahre]	57,1 (24,5-84,2)	56,5 (24,5-80,1)	57,5 (25,1-84,2)
Krankheitsdauer [Monate seit Erstmanifestation]	60 (1-528)	60 (4-240)	63,5 (1-528)
EUSTAR-Aktivitätsindex	2,5 (0-6,3)	2,5 (0-6,3)	2,3 (0-6,3)
Modified Rodnan skin score	5 (0-30)	7 (0-30)	4 (0-23)
Lungenfibrose, no (%)	49 (28)	25 (42)	24 (2)
Herzbeteiligung, no (%)	33 (19)	18 (31)	15 (13)
Pulmonal-arterielle Hypertonie, no (%)	21 (11)	5 (8)	16 (14)
Gastrointestinale Beteiligung, no (%)	69 (39)	18 (31)	51 (43)
Bewegungssystem, no (%)	106 (60)	40 (68)	66 (56)
Kritische Perfusion, no (%)	110 (62)	32 (54)	78 (66)
Scl-70-Ak, no (%)	46 (27)	33 (56)	13 (11)
CENP-B-Ak, no (%)	76 (42)	8 (14)	68 (58)

Metrische Variablen: Median (Minimum-Maximum); Nominale Variablen: Absolute Anzahl (Anzahl in Prozent)

3.1.1.1 Demografische Daten und Komorbidität

79 % des Patientenkollektivs sind weiblich, der Altersmedian beträgt 57 Jahre. Bis zur Probenentnahme dauerte der Krankheitsprozess im Median fünf Jahre an. Kardiologische Komorbiditäten sind mit 40 % die häufigsten Begleiterkrankungen, gefolgt von Overlap-Syndromen mit 25 %. Weitere demografische Daten und Komorbiditäten sind in der Tabelle 7-1 im Anhang 7.3.1 aufgeführt.

3.1.1.2 Klassifikationskriterien und Scores

Die ACR/EULAR-Kriterien sind bei 87 % der Patienten erfüllt, die Erfüllung einzelner Items kann der Tabelle 7-2 des Anhangs 7.3.2 entnommen werden. Nach EUSTAR-Aktivitätsindex liegt bei 62 % eine aktive Erkrankung vor. Der mediale mRSS beträgt fünf bei einem minimalen Score von 0 und maximalen Score von 30.

3.1.1.3 Organbeteiligung

An einer Lungenfibrose (interstitielle Lungenerkrankung) leiden in der untersuchten Kohorte 28 %, von einer Herzbeteiligung sind 19 % betroffen. Diese beiden vorrangig fibrotischen Komplikationen treten signifikant häufiger bei Patienten mit diffus-kutaner Verlaufsform auf (χ^2 -Test: Lungenfibrose: $p = 0,002$; Herzbeteiligung: $p = 0,007$). Altersunterschiede zwischen Manifestationsträgern und Nicht-Manifestationsträgern bestehen hingegen nicht (U-Test: Lungenfibrose: $p = 0,132$; Herzbeteiligung: $p = 0,417$).

Eine PAH ist bei 11 % der untersuchten Kohorte dokumentiert, eine kritische Perfusion bei 62 %. Während die PAH-Patienten signifikant älter sind (U-Test: $p = 0,000$) lässt sich bei der kritischen Minderperfusion kein Altersunterschied nachweisen (U-Test: $p = 0,517$). Die beiden vaskulopathischen Komplikationen unterscheiden sich weiterhin nicht bezüglich der Auftretenshäufigkeit bei den SSc-Verlaufsformen (χ^2 -Test: PAH: $p = 0,324$; kritische Perfusion: $p = 0,125$).

Zum Zeitpunkt der Serumentnahme lag bei einer Patientin der Verdacht auf eine beginnende renale Krise bei Proteinurie, eingeschränkter Nierenfunktion, Polymerase-III-Ak und der Erstdiagnose einer arteriellen Hypertonie vor.

Weitere quantifizierende und beschreibende Parameter zur Beurteilung der Organfunktion sind in Tabelle 7-3 im Anhang 7.3.3 zusammengefasst. Aufgrund von VHF, welches mit erhöhten NT-proBNP-Werten einhergeht und daher für die PAH nur bedingt aussagekräftig ist, wurden neun Patienten aus der NT-proBNP-Auswertung ausgeschlossen.

3.1.1.4 Serologische Befunde

Eine gesteigerte Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und erhöhte C-reaktives Protein (CRP)-Werte weisen im Routinelabor bei $n = 51$ auf eine Entzündung, die Autoimmundiagnostik bei $n = 28$ auf einen Komplementverbrauch hin. Aufgrund einer Sepsis wurde eine Patientin aus dieser Auswertung ausgenommen. Im Sklerodermie-Profil liegen bei $n = 46$ Scl-70-Ak und bei $n = 76$ CENP-B-Ak vor. Weitere Ergebnisse des Routinelabors sowie der Autoimmundiagnostik können der Tabelle 7-4 im Anhang 7.3.4 entnommen werden.

3.1.1.5 Medikation

95 % der SSc-Patienten erhielten in der Zeit vor der Probenentnahme Medikamente. 71 % standen unter iatrogenen Immunsuppression, bei 4 % wurden

starke Immunsuppressiva kombiniert. Vasoaktive Medikamente wurden von 58 % der Patienten eingenommen, ERA von 43 %. Die einzelnen Medikamentenklassen sind in Tabelle 7-5 im Anhang 7.3.5 aufgeführt.

3.1.2 Kontrollgruppe

In die Kontrollgruppe wurden n = 88 Blutspender im Alter zwischen 17 und 70 Jahren (Median: 40 Jahre) eingeschlossen. 59 % der HC sind weiblich und 41 % männlich.

3.2 Autoantikörperveränderungen bei SSc-Erkrankung

3.2.1 Unterschiede in den Autoantikörperwerten zwischen SSc und HC

Sowohl bei der SSc als auch bei den HC ist die Variabilität der Autoantikörper-Level hoch. Die explorativen U-Tests weisen bei 20 der 28 Ak auf Veränderungen der Ak-Werte im Vergleich von SSc zu HC hin (Abb.1). Für 16 davon weisen SSc-Patienten höhere Spiegel auf, vier Ak (VEGF-R1-, EGF-, ETBR-, M4R-Ak) sind bei den Gesundkontrollen höher.

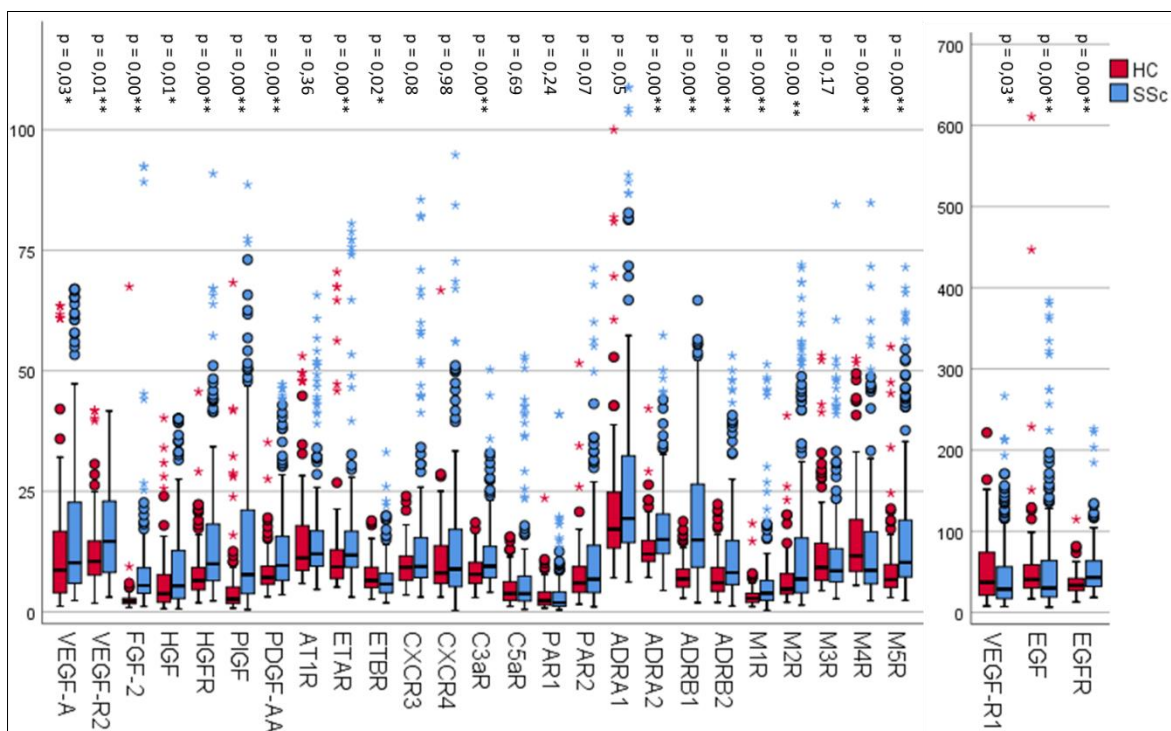


Abbildung 1. Autoantikörper-Level für Gesundkontrollen (HC) und systemische Sklerose (SSc)

Die Ak-Werte unterscheiden sich zwischen HC (rote Balken) und SSc (blaue Balken). Dabei sind im linken Diagramm Ak mit einem Höchstwert von 120 U/ml aufgetragen, während im rechten Diagramm Ak mit einer besonders hohen Varianz dargestellt sind. Das obere und das untere Quartil definieren die Boxen, der Median ist als Linie aufgetragen. Farbige Punkte markieren Ausreißer, definiert als außerhalb des Bereiches 1. Quartil + dem 1,5-fachen Interquartilsbereich liegend. Farbige Sterne markieren extreme Ausreißer, definiert als außerhalb des Bereiches des 1. Quartils + dem 3-fachen des Interquartilsbereichs liegend. X-Achse: Ak-Targets, Y-Achse: Ak-Werte (U/ml) Statistik: explorative U-Tests, $p < 0,05$, *; $p < 0,01$, **.

Unter Einbezug der SSc-Verlaufsformen sind die Ak-Level in der Regel bei der SSc höher als bei HC und dabei bei den ISSc niedriger als bei dSSc. Kongruent dazu sind die medianen Ak-Level mit Ausnahme der EGF-Ak und VEGF-R1-Ak in der dSSc am höchsten. Besonders bemerkenswert sind darunter Ak welche aus dieser Regel fallen und bei der ISSc im Vergleich zu den HC paradox erniedrigt sind. Dies betrifft die gegen ETBR, PAR1, M3R, M4R, VEGFR1 und EGF gerichteten Ak. Die einzelnen p-Werte sowie die Verteilung der Ak-Level können Anhang 7.4 (Abbildung 19 bis 21) und Anhang 7.4.2 (Tabelle 7.7) entnommen werden.

Für die Autoantikörper-Level der HC ist im U-Test kein Geschlechtsunterschied nachzuweisen, das Alter ist nach Spearman mit PAR1-Ak schwach negativ ($r = -0,221^*$) korreliert. Bei der SSc haben männliche Patienten höhere Level für zehn Ak (Ah. 7.4.2), das Alter ist negativ korreliert mit Ak gegen VEGF-A ($r = -0,311^{**}$), VEGF-R1 ($r = -0,243^{**}$), PIGF ($r = -0,271^{**}$), AT1R ($r = -0,196^*$), ETAR ($r = -0,168^*$), ETBR ($r = -0,209^{**}$), C3aR ($r = -0,148^*$), PAR1 ($r = -0,187^*$), M2R ($r = -0,170^*$), M3R ($r = -0,237^*$), M4R ($r = -0,232^{**}$), M5R ($r = -0,220^{**}$). Keiner der Ak ist positiv mit dem Alter korreliert.

3.2.2 Prädiktiver Wert der Autoantikörper für die SSc

FGF-Ak, ADRB1-Ak, und PIGF-Ak sind am besten zur Vorhersage der SSc geeignet (Abb. 2), denn für diese Ak liegt das vollständige AUC-Konfidenzintervall über $> 65\%$. Die Teststatistik der weiteren Ak ist angehängt (Ah. 7.4.1).

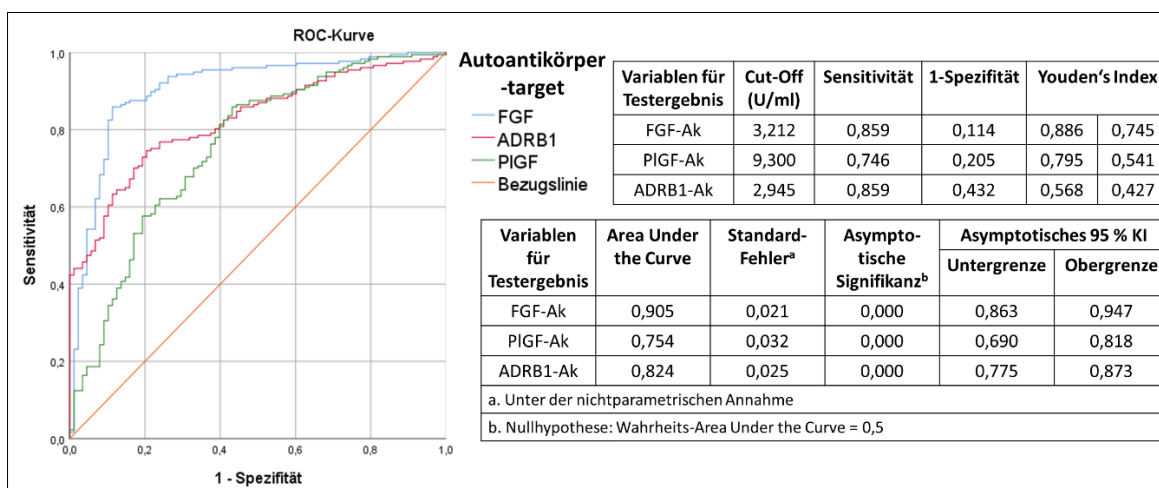


Abbildung 2: Receiver-Operating-Characteristic (ROC) der Autoantikörper mit hohem prädiktivem Wert in der SSc-Vorhersage

Gezeigt ist die ROC-Analyse der drei Auto mit dem höchsten prädiktiven Wert zur Vorhersage von systemischer Sklerose (SSc) im Vergleich zu Gesundkontrollen. Das 95 % - Konfidenzintervall (KI) der Area Under the Curve liegt bei den gegen FGF, ADRB1 und PIGF gerichteten Ak oberhalb von 65 %.

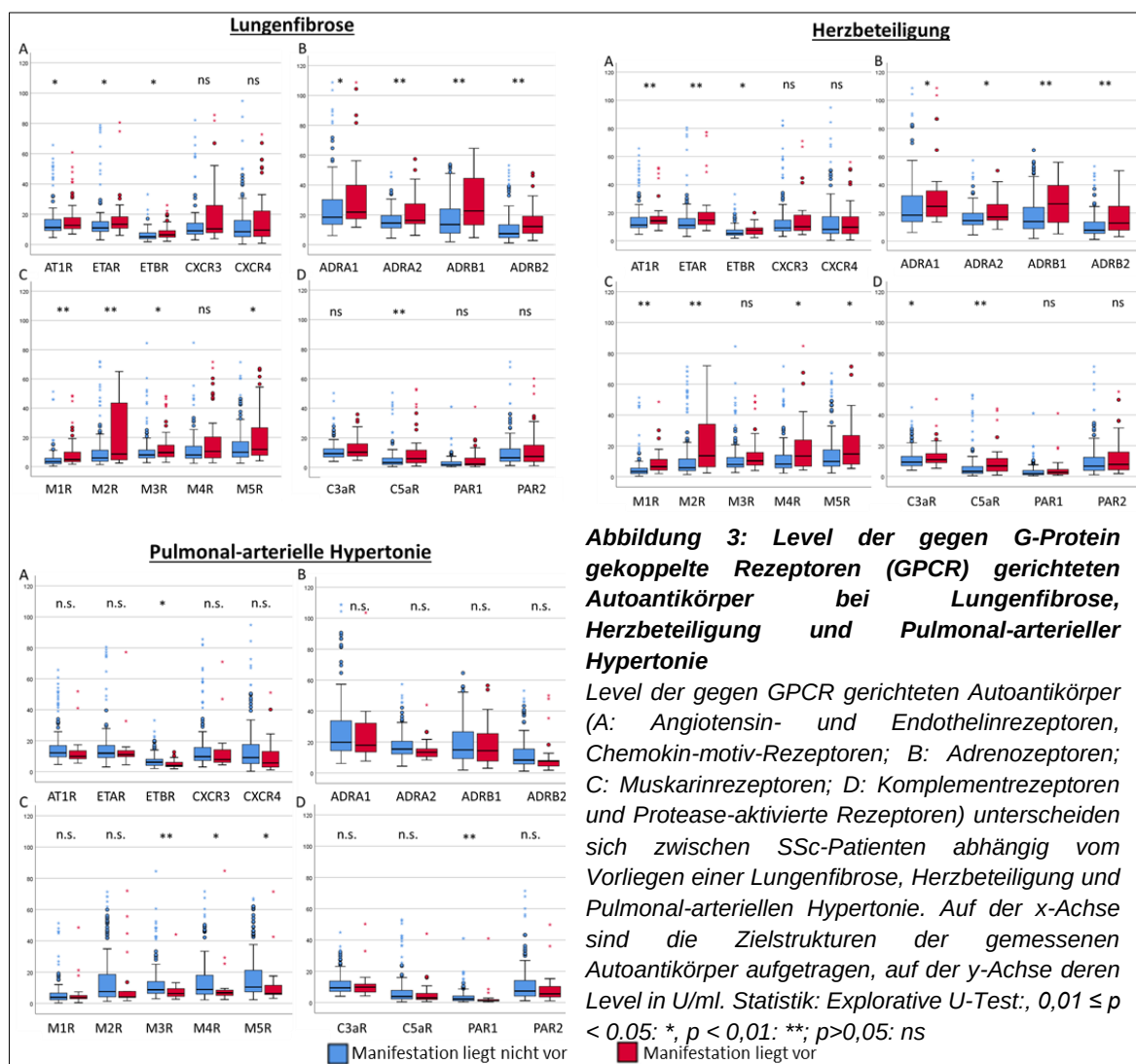
FGF-Ak zeichnen sich durch eine hohe Sensitivität von 86 % und Spezifität von 89 % aus, die Werte der ADRB1-Ak liegen etwas darunter. Für PIGF ist die AUC wesentlich durch die hohe Sensitivität von 86 % geprägt, die Spezifität beträgt 57%.

3.2.3 Autoantikörper und Krankheitsmanifestationen der SSc

Die p-Werte der explorativ vergleichenden U-Tests zwischen Ak-Leveln und klinischen Befunden bzw. Medikation der SSc-Patienten sind in Anhang (Ah 7.4.2, Tab. 7-7) aufgelistet. Im Folgenden wird auf einzelne Befunde dieser Tabelle näher eingegangen.

3.2.3.1 Organmanifestationen

Bei SSc-Patienten, die eine Organmanifestation an Herz oder Lunge aufweisen, sind die Ak-Level tendenziell höher als bei denjenigen ohne eine solche Manifestation. Bei SSc-PAH-Patienten finden sich hingegen verhältnismäßig niedrigere Ak-Spiegel. Die Abbildung 3 zeigt dies exemplarisch für die GPCR-Ak.



Die FVC ist nach Spearman mit gegen EGF ($r = -0,183^*$), HGFR ($r = -0,168^*$), PIGF ($r = -0,167^*$), CXCR3 ($r = -0,196^*$), ADRA2 ($r = -0,180^*$), ADRB1 ($r = -0,194^*$), ADRB2 ($r = -0,174^*$) und M1R ($r = -0,185^*$) gerichteten Ak schwach negativ korreliert, eine Korrelation zwischen FVC und Alter liegt nicht vor. Die NT-proBNP-Werte sind mit dem Alter ($r = 0,547^{**}$), aber nicht mit den Ak-Leveln korreliert. Nach U-Test liegt zwischen SSc-Patienten mit einer FVC $> 80\%$ und FVC $< 80\%$ kein Unterschied in den Ak-Werten vor, während mehrere Ak bei einer TLCO $< 80\%$ tendenziell höher sind. Für ein erhöhtes NT-proBNP besteht ein Zusammenhang mit höheren ADRB1-Ak- und CaSR-Ak-Werten. Bei einem sPAP > 40 mmHg weisen einige Ak tendenziell niedrigere Ak-Level auf. Der sPAP ist zudem mit AT1R-Ak und ($r = -0,193^*$) sowie dem Alter positiv ($r = 0,342^{**}$) korreliert.

Analog zu den niedrigeren Ak-Leveln bei der PAH und dem sPAP, aber entgegengesetzt zu den höheren Werten bei der SSc-bedingten Herzbeteiligung und der NT-proBNP-Erhöhung, sind die Level einiger Ak-Level bei den kardialen Befunden LVEF $< 55\%$, TAPSE < 18 mm und Troponin T-Erhöhung sowie den kardialen Komorbiditäten Atherosklerose und KHK niedriger.

Bei der Patientin mit Verdacht auf eine beginnende renale Krise zeigen sich keine Veränderungen. Für alle 31 untersuchten Ak finden sich mehrere Patienten mit sowohl höheren und als auch niedrigeren Ak-Werten.

3.2.3.2 Modified Rodnan skin score und weitere klinische Parameter

Der mRSS korreliert mit C5aR-Ak ($r = 0,159^*$) und ADRB1-Ak ($r = 0,253^{**}$), zum Alter besteht kein Zusammenhang. Mit der kritisch akralen Minderperfusion sind HGF-Ak nach U-Test assoziiert, Patienten mit dieser Manifestation haben höhere Ak-Werte. Weiterhin zeigen sechs Ak einen Zusammenhang zur Krankheitsaktivität und bei fünf Ak weisen die Ergebnisse auf höhere Werte bei aktiver Erkrankung (EUSTAR $\geq 2,5$) hin.

Von den Entzündungswerten sind eine BSG-Erhöhung bei zwölf Ak, CRP-Erhöhung bei acht Ak, C4-Erniedrigung bei 22 Ak und IL-2-Rezeptor-Erhöhung bei zwei Ak tendenziell höher bei p-Werten $< 0,05$. Eine C3c-Erniedrigung ist nicht assoziiert. In der Autoimmundiagnostik liegt ein Zusammenhang mit p-Werten $< 0,05$ für fünf Ak bei ANA-Positivität, 17 Ak bei Scl-70-Ak und 23 Ak bei CENP-B vor. Für positive ANA- und Scl-70-Ak sind die Ak-Level in der Gruppe der Merkmalsträger höher, für CENP-B Ak sind diese niedriger.

3.2.3.3 Medikation

Entsprechend den explorativen U-Tests weisen 24 Ak bei Cyclophosphamid, fünf Ak bei Mycophenolatmofetil, vier Ak bei ACE-Hemmer und je einem Ak bei Ciclosporin A und PDE-5-I tendenziell höhere Ak-Level auf. Bei (Hydroxy-)Chloroquin sind die Level von 17 Ak niedriger, bei Glukokortikoiden betrifft dies drei Ak. Bei Rituximab, sowie ERA, AT1R-Antagonisten und Betablocker deuten die U-Tests auf keine Assoziationen hin.

3.2.4 Prädiktiver Wert der Autoantikörper für Krankheitsmanifestationen

Das AUC-Konfidenzintervall der ROC-Analysen der morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Organmanifestationen liegt für keinen Ak vollständig oberhalb von 65 % bzw. unterhalb von 35 %, dementsprechend lässt sich keine dieser Manifestationen anhand der Ak-Level vorhersagen.

3.3 Auswertung in Kooperation mit dem IMBS

Nach Box-Cox Powertransformation, Zentrierung und Skalierung der Autoantikörperwerte sind diese annähernd standardnormalverteilt (Ah. 7.5.1). Die Einschlusskriterien für dichotome klinische Variablen wurden von den Merkmalen in Tabelle 3-2 erfüllt.

Tabelle 3-2: Dichotome klinische Merkmale mit $n \geq 40$ und einer Balance $\geq 0,2$

Merkmal	Ausprägung nein	Ausprägung ja	Balance
Scl-70-Ak	n = 125	n = 46	0,20
Lungenfibrose	n = 128	n = 49	0,20
NT-proBNP Erhöhung	n = 112	n = 46	0,21
Immunsuppression	n = 52	n = 125	0,21
Limitierte Verlaufsform	n = 59	n = 118	0,22
EUSTAR $\geq 2,5$	n = 67	n = 110	0,24
Kritische akrale Minderperfusion	n = 67	n = 110	0,24
Gastrointestinale Beteiligung	n = 107	n = 69	0,24
FVC < 80 %	n = 71	n = 46	0,24
TLCO < 80 %	n = 55	n = 75	0,24
Vasoaktive Medikamente	n = 75	n = 102	0,24
CENP-B-Ak	n = 96	n = 76	0,25
sPAP > 25 mmHg	n = 69	n = 40	0,23

Bei den kontinuierlichen klinischen Variablen CK, CRP, Erkrankungsdauer, mRSS und NT-proBNP fehlten nur < 10 % der Werte. Diese fünf Variablen wurden daher in die weitere Analyse eingeschlossen und die fehlenden Werte imputiert. Im Histogramm liegen ähnliche Verteilungen der Originaldaten und der imputierten

Daten vor. Nach Box-Cox Powertransformation und Imputation sind CK, Erkrankungsdauer und NT-pro-BNP annähernd normalverteilt. Für CRP und mRSS kann die Schiefe in der Verteilung der Daten nicht vollständig ausgeglichen werden (Ah. 7.5.2).

3.3.1 Korrelationsanalysen der Autoantikörper

In der PCA lassen sich anhand der ersten Hauptkomponente (PC) 54,7 % der Variabilität zwischen den Ak erklären. Um 80 % der Variabilität zu erklären, sind fünf PCs notwendig. Anhand von zwei Hauptkomponenten ist die Trennung von SSc-Patienten und Gesundkontrollen nicht möglich (Abb. 4).

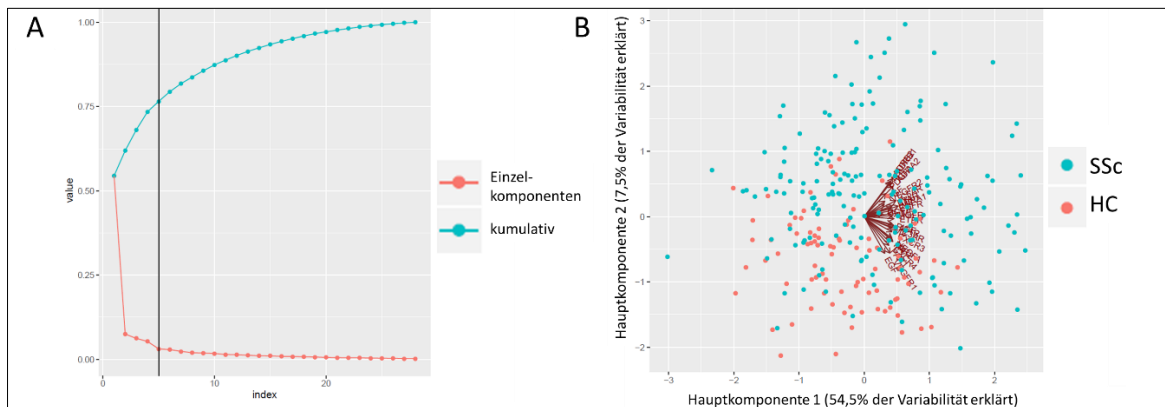


Abbildung 4: Hauptkomponentenanalyse der Autoantikörper-Level (1)

Zur Trennung von $n = 88$ Gesundkontrollen (HC) und 177 Patienten mit systemischer Sklerose (SSc) anhand der Autoantikörper-Level sind mehrere Hauptkomponenten notwendig. A) Scree-Graph: Darstellung der erklärten Variabilität abhängig von der einbezogenen Anzahl an Hauptkomponenten. 80 % der Variabilität lassen sich durch fünf Hauptkomponenten erklären (schwarze vertikale Linie). B) Biplot: Projektion der Individuen (Punkte) und der Variablen (Vektoren) auf die Hauptkomponenten 1 und 2. HC (rot) und SSc (cyan) lassen sich nicht anhand von zwei Hauptkomponenten trennen.

Basierend auf der hierarchischen Clusteranalyse aller gemessenen Ak-Werte (HC und SSc) ergeben sich sieben Cluster, welche ähnliche Autoantikörper erfassen (Abb. 5A und 5a). Anhand dieser Cluster sind die Ergebnisse zu Assoziationen und Prädiktion klinischer Manifestationen strukturiert. Bei Analyse getrennt nach HC und SSc unterscheiden sich die Gruppen hinsichtlich der Korrelationsstärken zwischen den Autoantikörpern. Dadurch ergibt sich eine veränderte hierarchische Clusterung der Einzelgruppen (Abb. 5B und 5C).

3.3.2 Regressionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

In den altersadjustierten logistischen Regressionsanalysen im Vergleich von SSc und HC sind die meisten Ak mit der SSc positiv assoziiert, während niedrigere Ak-

Level bei EGF-Ak und M4R-Ak nachweisbar sind (Abb. 6). Die Unterschiede in den Ak-Werten sind also nicht alleine durch Altersunterschiede erklärbar. Die Effekte sind aufgrund der Normalisierung der Autoantikörper relativ zueinander zu betrachten. Das bedeutet, je höher der Effekt ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, bei hohen Ak-Werten an SSc erkrankt zu sein. Der größte Effekt ist bei EGFR-Ak nachweisbar, gefolgt von ETAR-Ak, M5R-Ak und FGF-Ak.

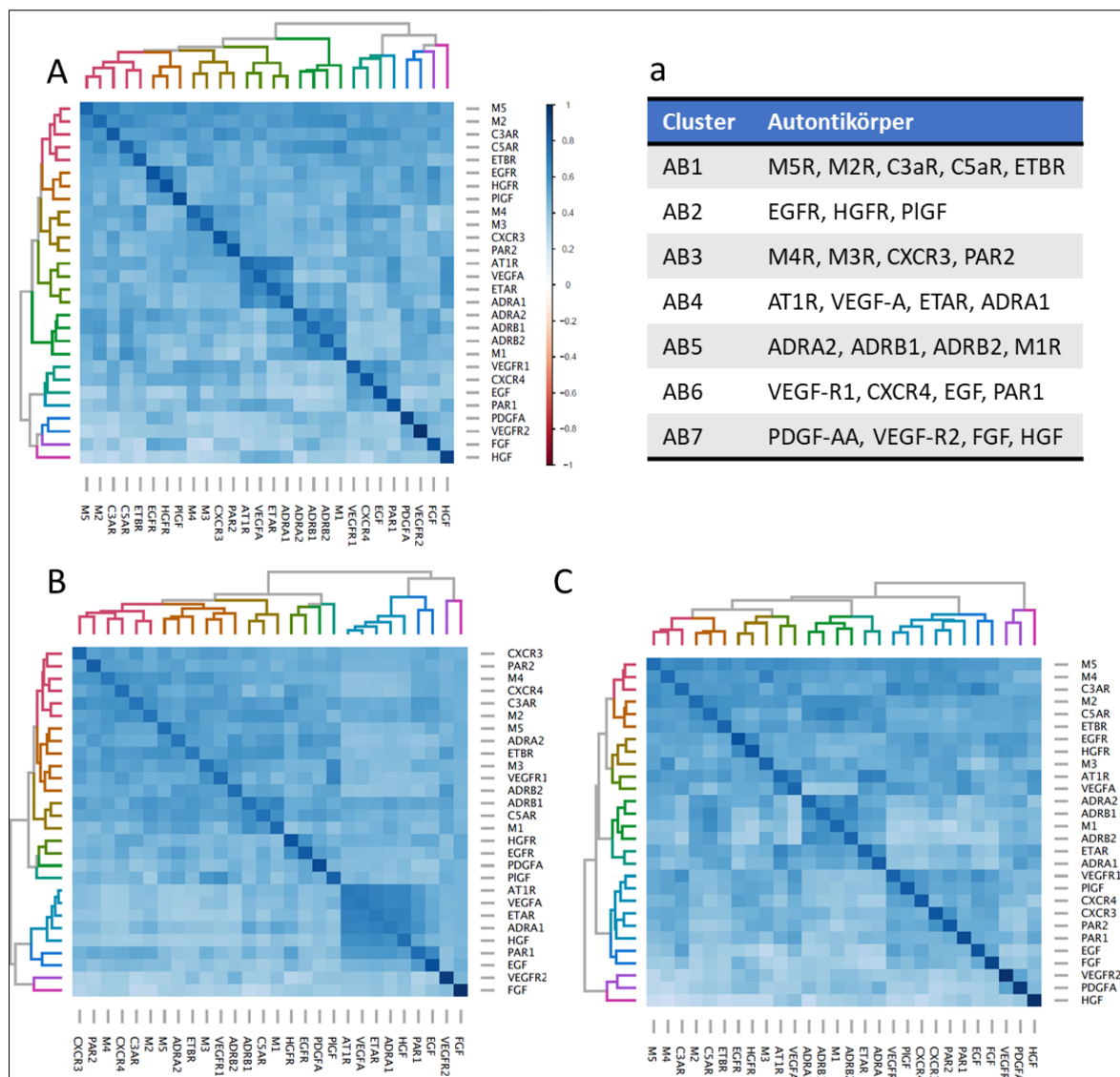


Abbildung 5: Hierarchische Cluster der Autoantikörper-Korrelationssignatur (1)

Die Korrelationsmatrix, basierend auf den Pearson-Korrelationen der Box-Cox powertransformierten, skalierten und zentrierten Autoantikörper-Werte, zeigt Cluster der Ak - Korrelationen bei A) $n = 265$ Probanden ($n = 88$ Gesunden und $n = 177$ Patienten mit systemischer Sklerose), B) $n = 177$ Patienten mit systemischer Sklerose und C) $n = 88$ Gesunden. In der Heatmap stellt jedes kleine Quadrat die paarweisen Korrelationen zwischen Ak dar. Die Korrelationscluster werden in Dendrogrammen am oberen und seitlichen Rand der Korrelationsmatrix dargestellt. a) Anhand der gemeinsamen Clusterung der $n = 265$ Probanden (A) können die Ak sieben Antikörperclustern (AB 1-7) zugeordnet werden.

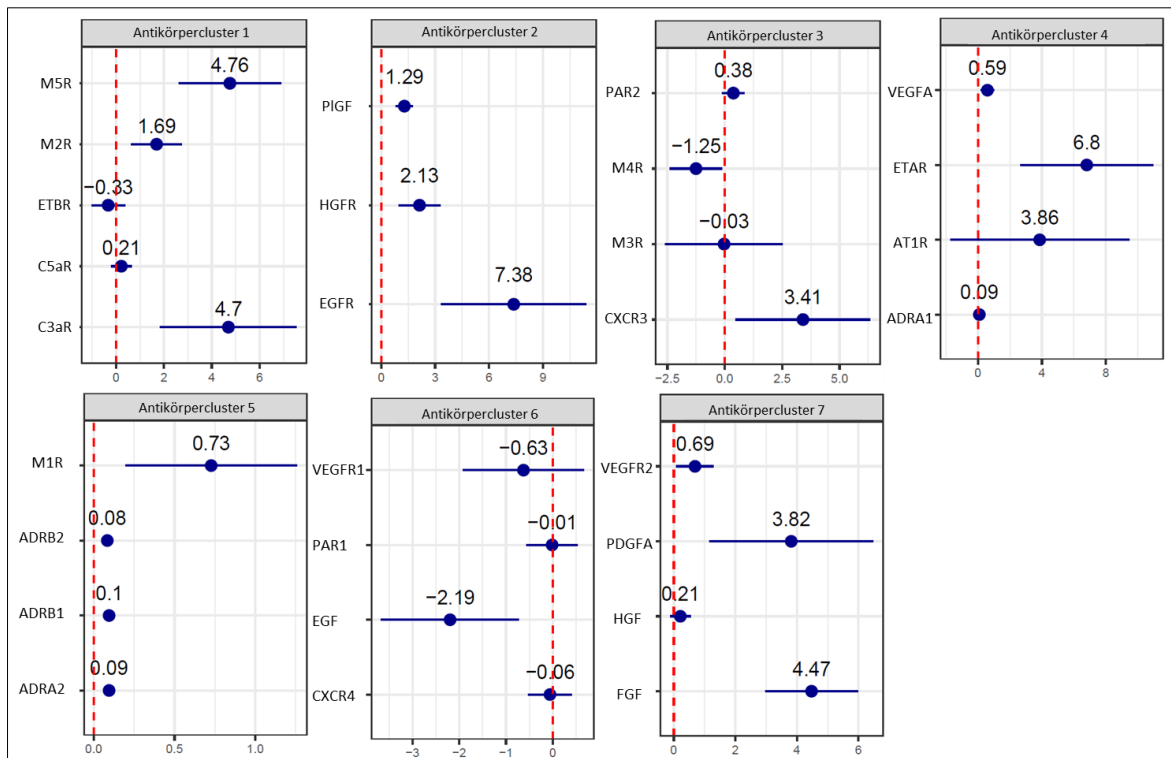


Abbildung 6: Regressionsanalyse der Autoantikörper (Ak)-Level von Patienten mit systemischer Sklerose (SSc) im Vergleich zu Gesundkontrollen (HC)

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für Ak in SSc ($n = 177$) im Vergleich mit HC ($n = 88$). Die Antikörper wurden den Plots entsprechend der hierarchischen Clusterung von SSc und HC (Abb. 5A) zugeordnet. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

Für die SSc-Phänotypen sind die Assoziationen im Folgenden sortiert nach Autoantikörperclustern (siehe Abb. 5A) beschrieben. Dabei sind Ak mit signifikanten Assoziationen zwischen Ak und dichotomen Merkmalen jeweils einschließlich des zugehörigen Antikörperclusters als Parameterplot visualisiert. Die weiteren Konfidenzintervalle sowie die Alterseffekte in den Modellen zeigen Anhang 7.5.3 und Anhang 7.5.4.

3.3.2.1 Antikörpercluster 1: M5R, M2R, ETBR, C3aR, C5aR

In der altersadjustierten logistischen Regression sind die Ak aus Cluster 1 signifikant assoziiert mit CENP-B-Ak und mit Ausnahme von C3aR-Ak auch mit Scl-70-Ak. Je höher die Autoantikörperwerte sind, desto seltener sind CENP-B-Ak nachzuweisen und desto häufiger sind Scl-70-Ak. Patienten mit niedrigen M2R-Ak und C5aR-Ak sind vermehrt an der ISSc erkrankt. Hohe Werte von M2R-Ak, ETBR-Ak und C5aR-Ak steigern die Wahrscheinlichkeit einer Lungenfibrose. Bei hohen C5aR-Ak sowie M5R-Ak ist zudem die Wahrscheinlichkeit einer $TLCO < 80 \%$ erhöht. Komplementrezeptor-Ak sind positiv und signifikant mit einem NT-proBNP oberhalb des Referenzbereiches assoziiert (Abbildung 7).

In der linearen Regression kontinuierlicher klinischer Merkmale und Autoantikörper liegt eine positive Korrelation mit einer Effektstärke von $d = 1,11$ zwischen dem mRSS und C5aR-Ak vor, diese sollte allerdings aufgrund der schiefen Verteilung des mRSS mit Vorsicht interpretiert werden.

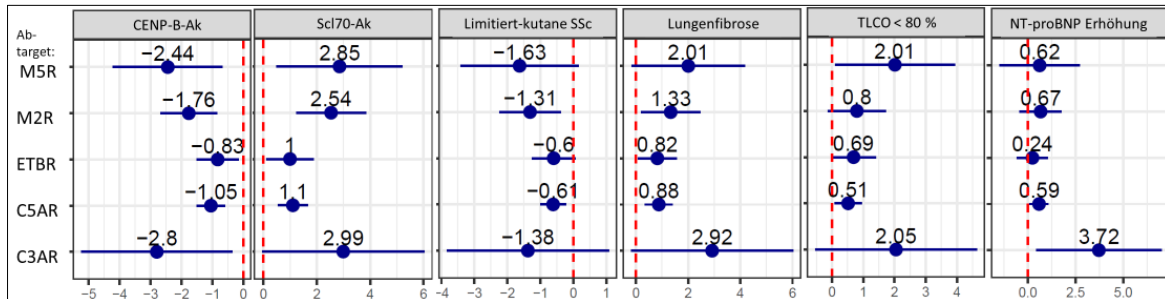


Abbildung 7: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 1

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 1 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.2 Antikörpercluster 2: PIGF, HGFR, EGFR

EGFR-Ak sind mit CENP-B-Ak und der ISSc negativ und mit Scl-70-Ak positiv assoziiert. Für HGFR-Ak und PIGF-Ak bestehen keine signifikanten Assoziationen. Genauso ist kein Autoantikörper des Clusters 2 mit kontinuierlichen klinischen Merkmalen assoziiert (Abbildung 8).

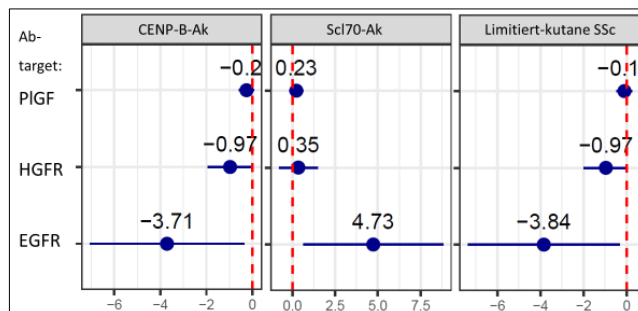


Abbildung 8: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 2

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 2 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.3 Antikörpercluster 3: PAR2, M3R, M4R, CXCR3

M3R-Ak und M4R-Ak sind signifikant negativ mit CENP-B-Ak assoziiert, für M4R liegt zudem eine positive Assoziation mit Scl-70-Ak und TLCO < 80 % vor. Hohe CXCR3-Ak-Werte steigern die Wahrscheinlichkeit einer vorausgegangenen vasoaktiven Therapie. PAR2 ist mit keiner klinischen Manifestationen signifikant assoziiert, weiterhin ist keiner der Ak aus Cluster 3 signifikant mit einem kontinuierlichen klinischen Merkmal assoziiert (Abbildung 9).

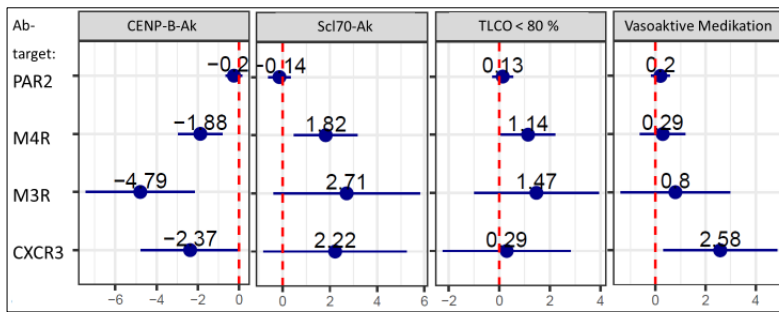


Abbildung 9: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 3

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 3 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.4 Antikörpercluster 4: VEGF-A, AT1R, ETAR, ADRA1

AT1R-Ak und ETAR-Ak sind wie folgt signifikant mit CENP-B-Ak, dSSc, und TLCO < 80 % assoziiert, ETAR-Ak zusätzlich mit Scl70-Ak: Bei erhöhter Expression der ETAR-Ak und AT1R-Ak sind CENP-B-Ak und eine limitiert-kutane Verlaufsform seltener nachweisbar, die Wahrscheinlichkeit für eine TLCO < 80 % und Scl-70-Ak ist erhöht. Verglichen mit den Autoantikörpern aus den anderen Clustern sind die Effekte von ETAR-Ak und AT1R-Ak besonders stark (Abbildung 10). ADRA1-Ak sind schwach positiv mit sPAP > 25 mmHg, FVC < 80 %, CENP-B-Ak und NT-proBNP (dichotom und kontinuierlich) assoziiert.

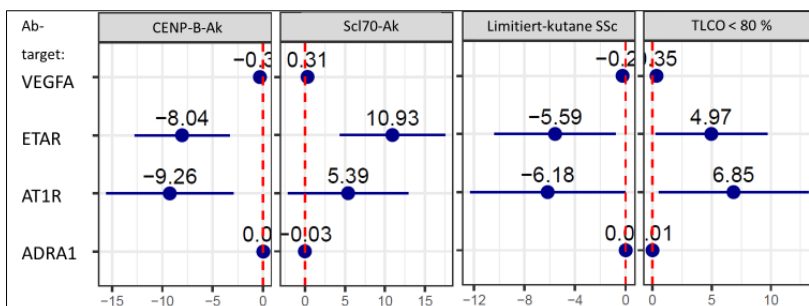


Abbildung 10: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 4

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 4 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen mit einer Effektstärke < 0,1. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.5 Antikörpercluster 5: M1R, ADRA2, ADRB1, ADRB2

Mit den Autoantikörpern gegen Adrenozeptoren sind FVC < 80 %, sPAP > 25 mmHg, CENP-B-Ak und NT-proBNP (kontinuierlich und dichotom) positiv assoziiert. Alle Effekte der Adrenozeptoren sind, analog zu ADRA1 aus dem Antikörpercluster 4 nur gering ausgeprägt. M1R-Ak sind negativ mit CENP-B-Ak und der ISSc assoziiert, eine positive Assoziation liegt für Scl-70-Ak, Lungenfibrose, TLCO < 80

% (Abbildung 11) und den kontinuierlichen Variablen NT-proBNP, CRP und mRSS vor.

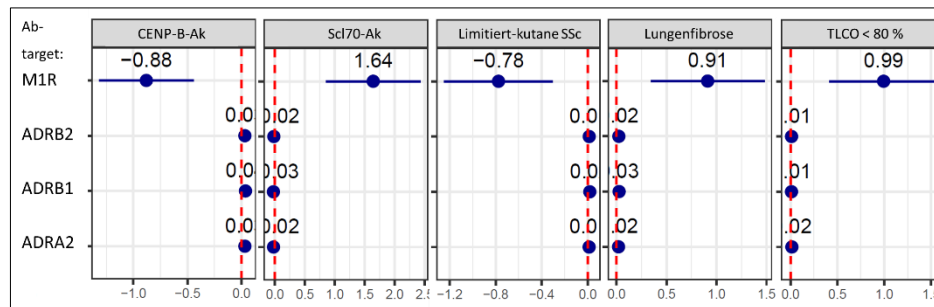


Abbildung 11: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 5

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 5 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen mit einer Effektstärke < 0,1. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.6 Antikörpercluster 6: VEGF-R1, PAR1, EGF, CXCR4

PAR1-Ak sind negativ mit CENP-B-Ak und ISSc assoziiert sowie positiv mit Scl-70-Ak. Patienten mit hohen EGF-Ak-Werten haben ein erhöhtes Risiko, für eine NT-proBNP Erhöhung (dichotom und kontinuierlich) und ein TLCO < 80 %. VEGF-R1-Ak und CXCR4-Ak sind nicht mit klinischen Merkmalen assoziiert. (Abbildung 12)

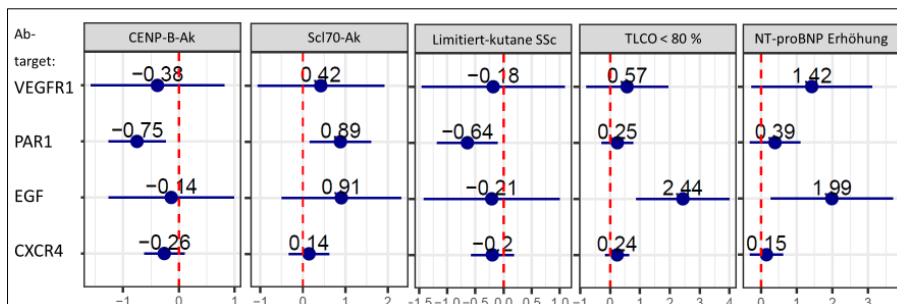


Abbildung 12: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 6

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 6 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.2.7 Antikörpercluster 7: VEGF-R2, PDGF-AA, HGF und FGF

VEGF-R2-Ak sind mit einer geringen Effektstärke negativ mit CENP-B-Ak und positiv mit Scl70-Ak und TLCO < 80 % assoziiert. PDGF-AA-Ak weisen ebenfalls eine positive Assoziation zu TLCO < 80 % auf. Patienten mit hohen HGF-Ak-Werten haben häufiger eine kritische akrale Minderperfusion (Abb. 13) und eine kürzere Erkrankungsdauer. Für FGF bestehen keine signifikanten Assoziationen.

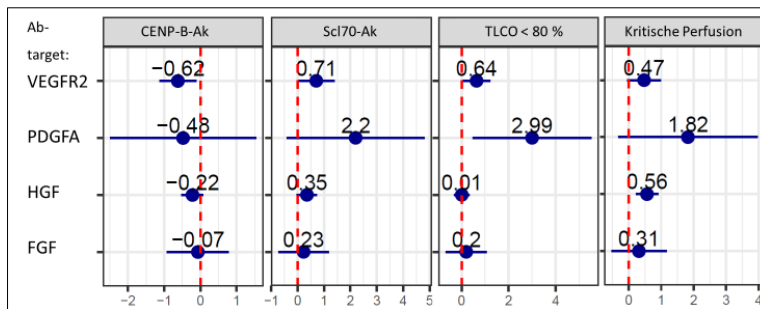


Abbildung 13: Regressionsanalyse der Autoantikörper des Antikörperclusters 7

Die Parameterplots zeigen die geschätzten Regressionskoeffizienten (blauer Punkt) und das 95 % Konfidenzintervall (blaue Linie) der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse für mit Autoantikörpern (Ak) des Antikörperclusters 7 signifikant assoziierte dichotome klinische Manifestationen. X-Achse: Effekt. Y-Achse: Ak-Typ.

3.3.3 Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

Die ROC-Analyse für HC versus SSc, welche vom IMBS anhand normalisierter Werte durchgeführt wurde, liefert identische Ergebnisse zu den nicht normalisierten Werten (s. Kapitel 3.2.2).

In den kreuzvalidierten ROC-Analysen und MSEs lassen sich keine prädiktiven Ak für neun der dichotomen (SSc-Form, Lungenfibrose, FVC < 80 %, TLCO < 80 % kritische Perfusion, Gastrointestinale Beteiligung, aktive Erkrankung, Immunsuppression, vasoaktive Medikation) sowie alle kontinuierlichen klinischen Manifestationen (CK, CRP, Erkrankungsdauer, mRSS, NT-proBNP) bestimmen. Für Scl-70-Ak, CENP-B-Ak, NT-proBNP Erhöhung und sPAP > 25 mmHg sind einzelne Ak prädiktiv (Abb. 14).

Folgende Zusammenhänge zeigen sich dabei sowohl in den logistischen Regressionmodellen als auch in den kreuzvalidierten ROC-Analysen: M1R-Ak und C5aR-Ak sind mit dem Vorliegen von Scl-70-Ak und CENP-B-Ak assoziiert. Die Vorzeichen der logistischen Regression zeigen, dass hohe Level dieser Ak prädiktiv für Scl-70-Ak und niedrige Ak-Level prädiktiv für CENP-B-Ak sind. Weiterhin sind hohe M2R-Ak-Spiegel sowie niedrige ADRB1-, ADRB2- und ADRA2-Ak Spiegel prädiktiv für CENP-B-Ak und höhere Adrenozeptor-Ak-Spiegel prädiktiv für einen sPAP > 25.

Kongruent zum linearen Regressionsmodell, welches einen positiven Zusammenhang zwischen M1R-Ak und NT-proBNP zeigt, weist die ROC-Analyse auf einen prädiktiven Wert hoher M1R-Ak für eine NT-proBNP-Erhöhung hin.

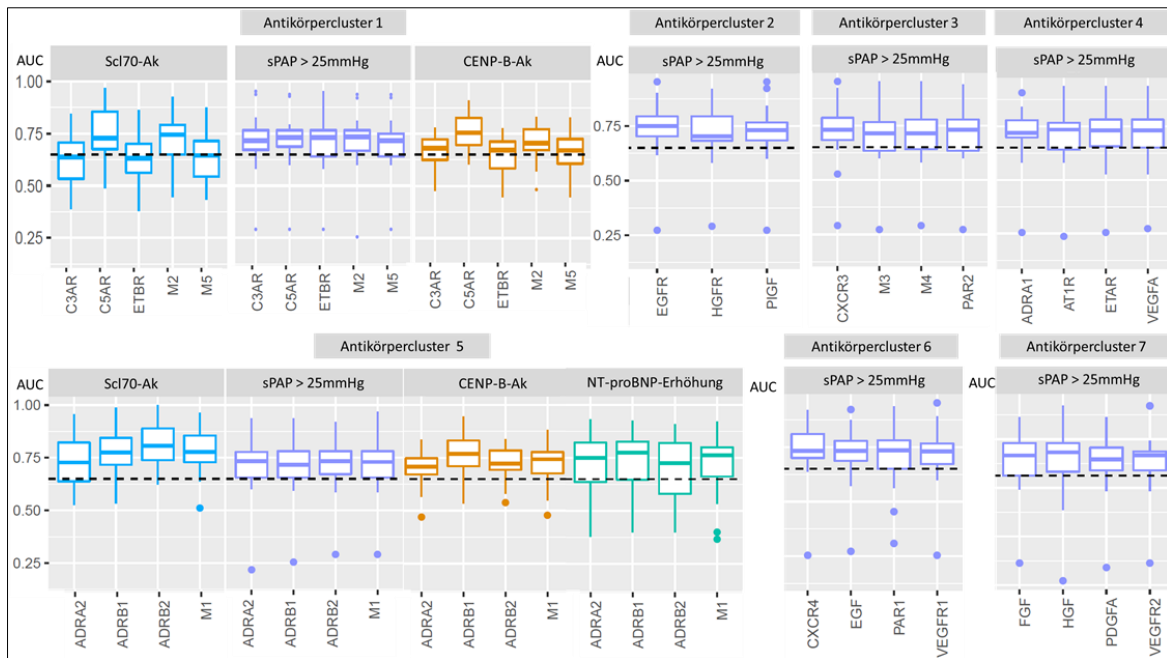


Abbildung 14: Geschätzte Area Under the Curve (AUC) von Autoantikörper-Leveln in der Prädiktion klinischer Merkmale

Die Boxplots zeigen die anhand von kreuzvalidierten Receiver-Operating-Characteristics ermittelten AUCs. Bei Lage der gesamten Box oberhalb der schwarz-gestrichelten Linie, welche den Vorhersage-Schwellenwertes einer AUC > 0,65 markiert, spricht dies für einen prädiktiven Wert des Autoantikörpers. X-Achse: Autoantikörper-Typ Y-Achse: geschätzte AUC. Hellblau: Scl-70-Ak, Blau-violett: sPAP < 25mmHg, Orange: CENP-B-Ak, Blau-grün: NT-proBNP-Erhöhung. M1-M5 $\triangleq$ M1R-M5R

3.4 Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke

Wie bereits in der hierarchischen Clusterung (Abb. 5) gezeigt, unterscheiden sich HC und SSc hinsichtlich der Stärke und Gruppierung der Ak-Korrelationen. Derartige Veränderungen lassen sich auch anhand kreisförmiger Diagramme basierend auf Bonferroni-korrigierten Pearson-Korrelationsmatrizen darstellen. Diese Form der Visualisierung verdeutlicht den Netzwerkcharakter der Ak-Korrelationen und hilft, Veränderungen in der Ak-Signatur zu erfassen. Allerdings sollten die Netzwerkabweichungen bei der vergleichenden Betrachtung aufgrund der Unterschiede in den Kohortengrößen nicht überinterpretiert werden.

Bezüglich der Netzwerksignaturen von HC und SSc fällt auf, dass alle signifikanten Ak-Zusammenhänge positiv sind und die höchste Korrelation jeweils zwischen AT1R-Ak und VEGF-A-Ak vorliegt (Abb. 15 A-B). In HC bilden insbesondere M2R-Ak und VEGF-A-Ak Knotenpunkte aus, wohingegen in der SSc AT1R-Ak, M4R-Ak, C5aR-Ak, VEGF-A-Ak, und PIGF-Ak stark vernetzt sind. Darüber hinaus sind bei der SSc die meisten Korrelationen stärker ausgeprägt als bei den HC. Besonders große Unterschiede liegen dabei einerseits für M4R-Ak mit VEGF-A-Ak und VEGF-R1-Ak vor und andererseits für AT1R-Ak mit C5aR-Ak und VEGF-R2-Ak (Tab. 3-3).

Tabelle 3-3: Korrelationskoeffizienten und p-Werte der zwischen systemischer Sklerose (SSc) und Gesundkontrollen (HC) auffällig veränderten Korrelationen. Signifikanztestung nach Lenhard und Lenhard [76]

Autoantikörper-Korrelation	Pearson Korrelation (Box-Cox powertransformierte Ak-Werte)			Spearman Korrelation (nicht normalisierte Ak-Werte)		
	HC (n = 88)	SSc (n = 177)	p-Wert	HC (n = 88)	SSc (n = 177)	p-Wert
M4R - VEGFA	r = 0,052	r = 0,458	0,000**	r = 0,326	r = 0,706	0,000**
M4R - VEGFR1	r = 0,01	r = 0,457	0,000**	r = 0,527	r = 0,72	0,016*
M4R - PIGF	r = 0,178	r = 0,541	0,002**	r = 0,373	r = 0,73	0,000**
AT1R - VEGFR2	r = -0,038	r = 0,391	0,000**	r = 0,176	r = 0,474	0,010*
AT1R - C5aR1	r = 0,3	r = 0,589	0,006**	r = 0,543	r = 0,726	0,018*

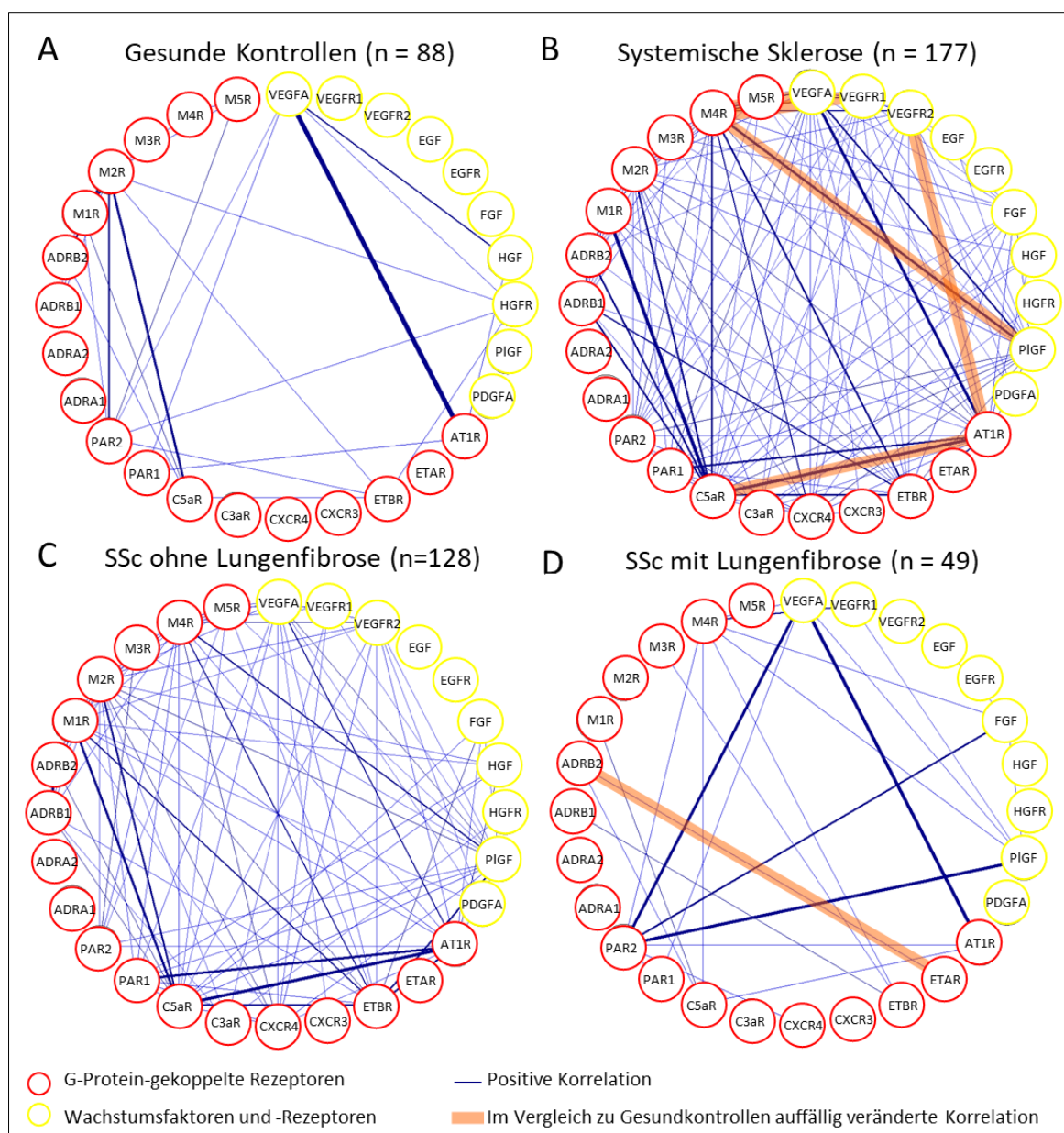


Abbildung 15: Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken (1)

Die zirkulären Netzwerke zeigen die nach Bonferroni-Korrektur signifikanten Beziehungen zwischen den Autoantikörpern basierend auf der Pearson-Korrelationsmatrix. Alle abgebildeten Korrelationen sind positiv, je dicker die blaue Linie, desto stärker die Korrelation. Die orangefarbenen Linien zeigen einen Unterschied im r-Wert > 0,4 verglichen mit dem Netzwerk der Gesundkontrollen an.

Ein detaillierterer Einblick in die Veränderungen der Netzwerksignaturen kann über die Darstellung von Korrelationsmustern der Ak-Netzwerke bei verschiedenen SSc-Phänotypen, wie unter anderem von SSc-Patienten mit und ohne Lungenfibrose erfolgen (Abb. 15 C-D und Ah. 7.6).

Dabei weisen die Netzwerksignaturen der SSc-Phänotypen teils ähnliche Muster wie die SSc-Gesamtkohorte auf, einige Veränderungen sind jedoch nur in den Subgruppen nachweisbar. So sind sowohl bei der SSc als auch bei der Untergruppe von SSc-Patienten mit Lungenfibrose M4R-Ak, C5aR-Ak und VEGF-A-Ak im Sinne von Knotenpunkten stark vernetzt. In SSc-Patienten mit Lungenfibrose bilden darüber hinaus PAR-2-Ak, FGF-Ak und PlGF-Ak wichtige Schnittpunkte. Interessanterweise sind PlGF-Ak auch bei weiteren SSc-Phänotypen wie der dSSc sowie den FVC-abhängigen Netzwerken zentral. FGF-Ak nehmen zusätzlich eine zentrale Rolle bei einer FVC < 80 % ein.

Bei SSc-Patienten mit Lungenfibrose ist zudem die Korrelation zwischen ETAR-Ak und ADRB2-Ak sowohl im Vergleich zu HC als auch zur SSc erhöht. Dieser Unterschied ist nach Pearson signifikant zwischen SSc-Patienten mit und ohne Lungenfibrose sowie zwischen SSc-Patienten mit einer FVC > 80 % bzw. < 80 %. Nach Spearman sind die Unterschiede teilweise deutlich geringer, sodass Verzerrungen durch die Normalisierung nicht auszuschließen sind, die Tendenzen bleiben jedoch erhalten. Die einzelnen Korrelationskoeffizienten, differenziert nach Spearman und Pearson, sind in Tabelle 3-4 dargestellt, die entsprechenden p-Werte in Tabelle 3-5.

Die Manifestationen „Herzbeteiligung“, „PAH“, „NT-proBNP-Erhöhung“ und „mRSS-Erhöhung“ eignen sich aufgrund einer zu geringen Stichprobengröße in der Merkmalsträgergruppe nicht zur Analyse mittels Bonferroni-korrigierter Korrelationsmatrix nach Pearson.

Tabelle 3-4: Korrelationskoeffizienten bei Lungenfibrose auffällig veränderter Autoantikörper (Ak)-Korrelation bei Gesundkontrollen (HC), systemischer Sklerose (SSc) und ausgewählten SSc-Manifestationen. Die Pearson-Korrelationen wurden basierend auf den Box-Cox powertransformierten, skalierten und zentrierten Ak-Werten und die Spearman-Korrelationen basierend auf den nicht normalisierten Daten bestimmt.

ETAR-Ak – ADRB2-Ak	HC	SSc	Lungen- fibrose	FVC < 80 %	Keine Lungenfibrose	FVC > 80 %
	n = 88	n = 177	n = 49	n = 51	n = 128	n = 89
Pearson	r = 0,125	r = 0,189	r = 0,599	r = 0,582	r = 0,096	r = 0,082
Spearman	r = 0,275	r = 0,611	r = 0,706	r = 0,637	r = 0,572	r = 0,538

Tabelle 3-5: p-Werte der Unterschiede bei Lungenfibrose auffällig veränderter Autoantikörper (Ak)-Korrelationen bei Gesundkontrollen (HC), systemischer Sklerose (SSc) und ausgewählten SSc-Manifestationen. Die Pearson-Korrelationen wurden basierend auf den Box-Cox powertransformierten, skalierten und zentrierten Ak-Werten und die Spearman-Korrelationen basierend auf den nicht normalisierten Daten bestimmt. Nach zeilenweiser Korrektur für multiples Testen liegt das Signifikanzniveau bei $p < 0,07$. Signifikanztestung nach Lenhard und Lenhard [78]

p-Werte:	HC/ SSc	HC / Lungen-fibrose	HC / keine Lungen-fibrose	Lungen-fibrose Ja/Nein	HC / FVC < 80%	HC / FVC > 80 %	FVC < 80 %/ > 80 %
Pearson	0,62	0,004**	0,834	0,002**	0,002**	0,776	0,002**
Spearman	0,002**	0,002**	0,006**	0,184	0,01	0,536	0,4

3.5 Auswertung in Kooperation mit dem LIED

3.5.1 Korrelationsanalysen zwischen den Autoantikörpern

Nach Yeo-Johnson Transformation, Zentrierung und Skalierung der Autoantikörperwerte sind diese annähernd standardnormalverteilt (Ah. 7.5.1). In der PCA erklärt die erste PC 54,7 % der Ak-Variabilität, eine Trennung von SSc und HC ist anhand von wenigen Hauptkomponenten nicht möglich (Abb. 16).

Sehr ähnlich zu den Ergebnissen des IMBS bilden sich, basierend auf der gemeinsamen hierarchischen Clusterung von HC und SSc, sieben Gruppen aus, die bei der getrennten Analyse von HC und SSc verändert sind (Ah. 7.5.2).

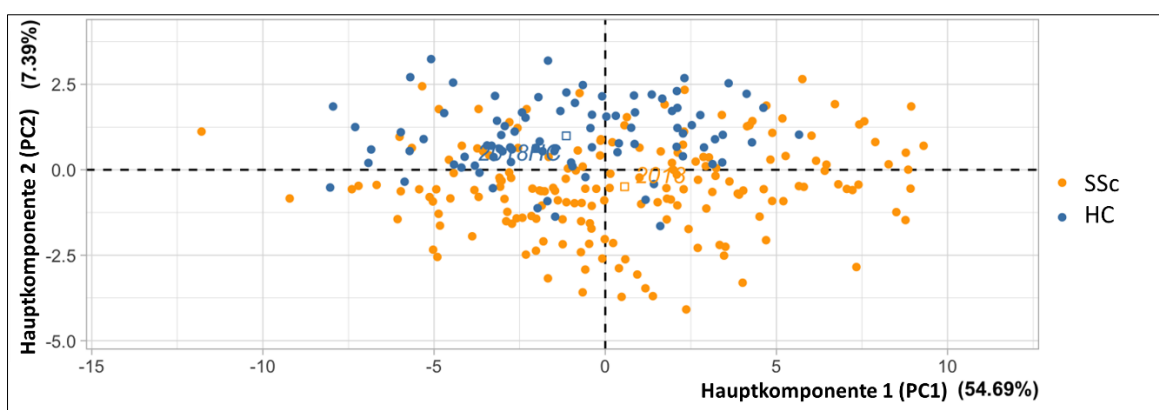


Abbildung 16: Hauptkomponentenanalyse der Autoantikörper-Level (2)

Im Biplot sind die Individuen der Gesundkontrollen (HC, $n = 88$, blau) und Patienten mit systemischer Sklerose (SSc, $n = 177$, gelb) auf die Hauptkomponenten 1 und 2 geplottet.

3.5.2 Prädiktionsmodelle für Autoantikörper und klinische Merkmale

Die Ergebnisse der unterschiedlichen maschinellen Lernalgorithmen, die auf die Vorhersage von SSc und SSc-Manifestationen trainiert wurden, sind modellübergreifend sehr ähnlich, gleiches gilt auch für die normalisierten Ak-Werte, verglichen mit den nicht transformierten Daten. Im Folgenden werden die Ergebnisse beispielhaft am Random Forest Klassifikator dargestellt.

Für eine Ak-basierte Separierung von HC und SSc beträgt die Accuracy 0,89 bei einem Kappa-Wert von 0,75. FGF-Ak sind für die Klassifizierung am wichtigsten, gefolgt von ADRB1-Ak (Abbildung 17: Im Vorhersagemodell sind die Ak bei überlappenden Konfidenzintervallen leicht abweichend gerankt. FGF-Ak stehen weiterhin an erster Stelle, gefolgt von EGF-Ak (Abbildung 17 B).

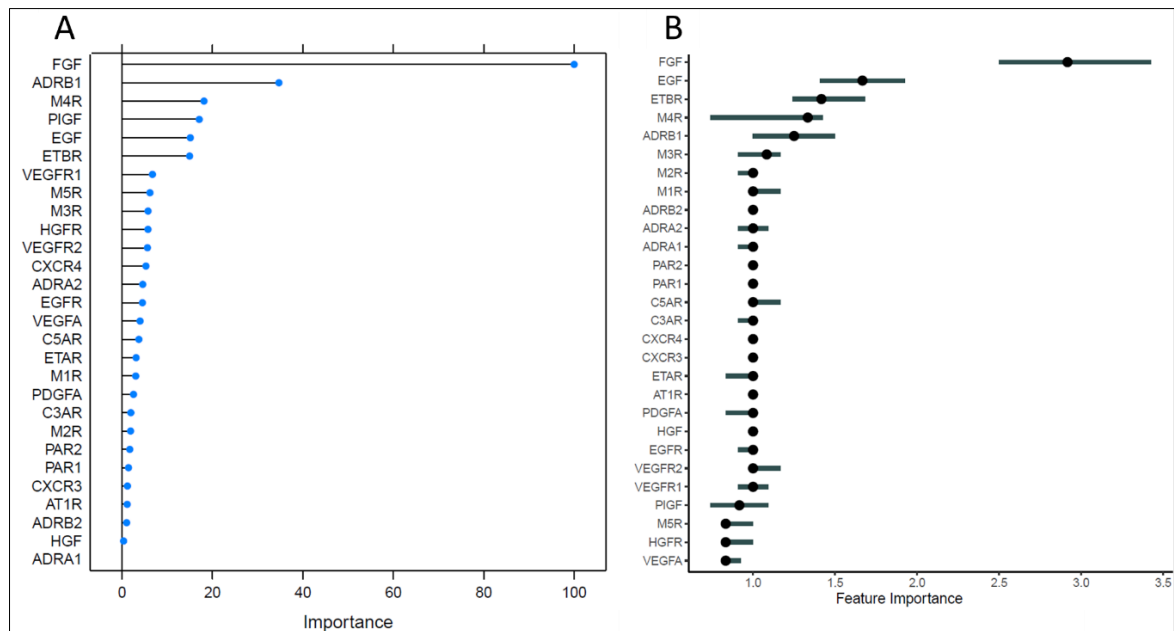


Abbildung 17: Feature importance ranking der Autoantikörper-Wichtigkeit im Random Forest Klassifikator

Ranking der Autoantikörperwichtigkeit in Relation zueinander anhand des Random Forest Modells. Das Modell zeigt die Wichtigkeit der einzelnen Autoantikörper in der Klassifikation (A) und der Prädiktion (B) von Systemischer Sklerose im Vergleich zu Gesundkontrollen. Die Autoantikörper sind auf der y-Achse in nach absteigender Relevanz angeordnet, die spezifische Wichtigkeit ist auf der x-Achse dargestellt (Random Forest mit Grid extension strategie, Trainingsdatensatz: 75%, Testdatensatz 25%).

In diesem Modell lassen sich die morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden klinischen Manifestationen nicht zuverlässig anhand der Ak-Spiegel oder einer Kombination dieser vorhersagen. Die niedrigen Kappa-Werte zeigen, dass zufällige Zuweisungen zur richtigen Gruppe die hohe Accuracy einiger Kovariaten bedingen (Tabelle 3-6). In der kontinuierlichen Analyse des mRSS ergeben sich hohe RMSE-Werte von 6,660 im Trainingsdaten-Set und 6,213 im Testdaten-Set. Dies bedeutet, dass die Ak sich ebenfalls nicht zur Vorhersage des mRSS eignen.

Tabelle 3-6: Vorhersage klinischer SSc-Manifestationen anhand von Autoantikörpern (Ak), basierend auf dem Random Forest Klassifikator

	Normalisierte Ak-Werte		Nicht normalisierte Ak-Werte	
	Accuracy	Kappa	Accuracy	Kappa
SSc-Verlaufsform	Nicht berechnet		0.6279	0.0058
Lungenfibrose	0,7273	0,0704	0.7273	0.0704
Herzbeteiligung	0.7907	-0.0431	0.8140	0
PAH	0.8864	0	0.8864	0
Kritisch akrale Minderperfusion	0.5116	-0.1162	0.75	0.25
FVC < 80 %	0.5588	-0.0759	0.5	-0.2194
NT-proBNP Erhöhung	0.6389	-0.0833	0.5116	-0.0866
sPAP > 25 mmHg	0.6538	0.1203	0.6538	0.1203

3.5.2.1 Autoantikörper-Hauptkomponenten und klinische Merkmale

Die Selektion derjenigen Patienten mit vollständigen Angaben bezüglich der ausgewählten klinischen Manifestationen führt zu einem reduzierten Datensatz von $n = 110$ SSc-Patienten. In der Hauptkomponentenanalyse verbleiben nach Anwendung des Kaiser-Kriteriums jeweils vier Hauptkomponenten mit einer erklärten Gesamtvarianz von 75,5 % bei allen $n = 177$ SSc-Patienten bzw. 77,0 % im reduzierten Datensatz mit $n = 110$ SSc-Patienten. Der größte Teil davon entfällt auf die PC1 mit 59,3 % ($n = 177$) bzw. 60,6 % ($n = 110$), diese ist zudem mit den meisten Ak hoch korreliert (Ah. 7.7.3.1). Die Ausbildung von PC3 und PC4 wird durch einzelne Ak getrieben, wie die Darstellung der Ak-Beiträge zeigt (Ah. 7.7.3.2). Für PC4 sind dies gegen VEGF-R2 und PDGF-AA gerichtete Ak, für PC3 weichen die meist beitragenden Ak zwischen den Datensätzen ab.

Die Biplots, welche anhand der klinischen Manifestationen aufgetragen wurden, deuten auf leichte Effekte der PCs 1 und 2 auf die SSc-Form, Lungenfibrose und Herzbeteiligung hin (Ah. 7.7.4). Diese können anhand der logistischen Regressionsanalyse quantifiziert werden und sind mit $p < 0,05$ signifikant, wobei die Werte nicht für multiples Testen korrigiert wurden. Die dSSc, Lungenfibrose und Herzbeteiligung treten bei steigenden PCs 1 und 2 mit einer größeren Wahrscheinlichkeit auf (Tab. 3-7). M1R-Ak, M2R-Ak, C5aR-Ak und ADRB1-Ak tragen bei gemeinsamer Auswertung der PC1 und 2 am meisten zu den PCs bei (Abbildung 18). Auswirkungen der PCs auf die PAH, eine NT-proBNP-Erhöhung und einen hohen mRSS-Score sind in der Regressionsanalyse nicht signifikant. Die Manifestationen „niedrige FVC“ und „kritische Perfusionsstörung“ wurden aufgrund der zufälligen Verteilung in den Biplots nicht weiter analysiert.

Tabelle 3-7: Konfidenzintervalle der Hauptkomponenten-Effekte auf Krankheitsmanifestationen der systemischen Sklerose

Die Tabelle zeigt die geschätzten Regressionskoeffizienten (Effekte) und das 95 % Konfidenzintervall (KI) der logistischen Regressionsanalyse für auf den Autoantikörper-Spiegeln beruhenden Hauptkomponenten und morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen der SSc. Dabei weisen Konfidenzintervalle, welche vollständig im positiven bzw. vollständig im negativen Bereich liegen, auf einen Zusammenhang zwischen der Hauptkomponente und der entsprechenden Manifestation hin, dies lässt sich weiterhin über die p-Werte einsehen. Die Effektstärken sind relativ zueinander zu betrachten: Je höher der Betrag des Effektes ist, desto größer ist der Zusammenhang.

	Hauptkomponente 1			Hauptkomponente 2			Hauptkomponente 3			Hauptkomponente 4		
	Effekt	KI des Effekts	p-Wert	Effekt	KI des Effekts	p-Wert	Effekt	KI des Effekts	p-Wert	Effekt	KI des Effekts	p-Wert
dSSc	2.08	0.48-3.67	0.011	0.83	0.25 - 1.40	0.005	-0.18	- 0.28 – 0.65	0.430	0.27	- 0.67 – 0.12	0.175
Lungenfibrose	1,79	0.17 – 3.40	0.030	0.84	0.26 – 1.42	0.005	-0.14	- 0.61 – 0.32	0.542	0.18	- 0.22 – 0.58	0.364
Herz-beteiligung	1,99	0.10 – 3.88	0.039	0.72	0.04 – 1.41	0.040	0.00	- 0.54 – 0.55	0.995	-0.06	- 0.53 – 0.40	0.787
PAH	-1.27	-3.88-1.33	0.334	0.34	- 0.61 – 1.29	0.483	-0.08	- 0.82 – 0.65	0.820	0.01	- 0.62 – 0.65	0.963
NT-proBNP Erhöhung	1,17	-0.58 – 2.91	0.188	0.28	- 0.35 – 0.92	0.381	0.01	- 0.49 – 0.51	0.964	0.22	- 0.20 – 0.65	0.302
mRSS > 14	1,22	-0.89 – 3.33	0.256	0.56	- 0.21 – 1.32	0.151	-0.52	- 1.11 – 0.07	0.085	0.19	- 0.33 – 0.70	0.474

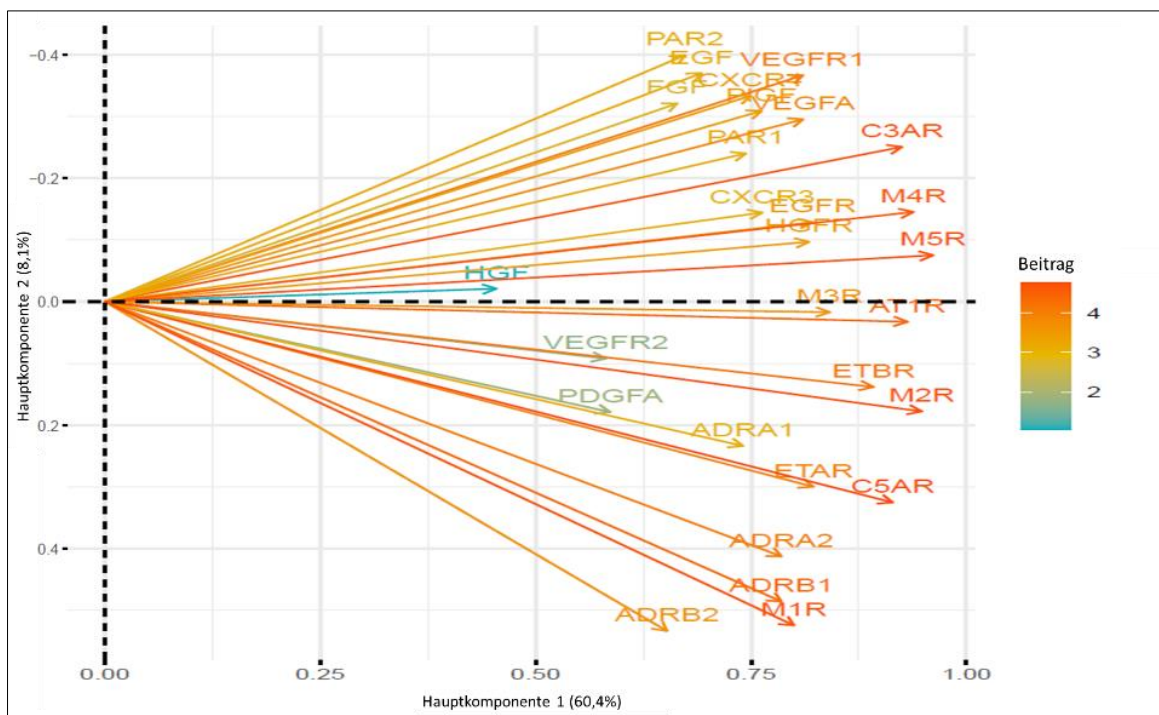


Abbildung 18: Beitrag der Autoantikörper zu den Hauptkomponenten 1 und 2

Projektion der Autoantikörper als Vektoren auf die Hauptkomponenten 1 und 2. Die Farbcodierung zeigt, inwiefern die Autoantikörper zur Ausbildung dieser Hauptkomponenten beitragen.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Autoantikörper-Level von 31 bzw. 28 gegen GPCR und ähnlichen Molekülen in Seren von SSc-Patienten ($n = 177$) und Gesundkontrollen ($n = 88$) mittels ELISA gemessen und anhand von biostatistischen und bioinformatischen Methoden auf Korrelationen, Assoziationen und ihren prädiktiven Wert bezüglich klinischer SSc-Befunde untersucht.

Die meisten Ak sind hoch korreliert und bilden ein Netzwerk, das sich bei HC und SSc unterscheidet. Darüber hinaus bilden sich bei der Analyse verschiedener SSc-Phänotypen, wie dSSc, Lungenfibrose oder Herzbeteiligung veränderte Netzwerksignaturen aus. Bei der SSc sind in der logistischen Regression 19 von 28 Ak-Spiegeln im Vergleich zu HC verändert, den höchsten prädiktiven Wert haben FGF-Ak gefolgt von ADRB1-Ak und PIGF-Ak. Dabei weisen dSSc-Patienten für die meisten Ak höhere Spiegel auf als ISSc-Patienten. Ebenso sind Herz- und Lungenbeteiligung mit höheren Ak-Leveln assoziiert. Bei der PAH hingegen finden sich zumeist niedrigere Ak-Level. Im untersuchten SSc-Kollektiv gelingt die Vorhersage von SSc-Erkrankungsmanifestationen anhand von einzelnen Ak oder einer Kombination dieser nicht.

4.1 Diskussion der Methoden

4.1.1 Patientenkohorte

In die Studie wurden SSc-Patienten eingeschlossen, die sich in den Jahren 2015 bis 2018 in der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck vorgestellt hatten. Aufgrund der Erkrankungsschwere sind die SSc-Patienten bei Erstkontakt zu einem Zentrum für systemische Sklerose fast immer vorbehandelt, sodass die Patienten unabhängig von ihrer Medikation in die Studie aufgenommen wurden. Aufgrund der Vielzahl unterschiedlicher Medikamentenkombinationen mit verschiedenen Wirkprinzipien (immunsuppressiv, vasoaktiv) war bei unserer Stichprobengröße zudem keine statistische Adjustierung für die diversen Therapien möglich. Allerdings ist anzunehmen, dass Medikamente die Ak-Level beeinflussen, wie zuvor von Loebel et al. für die B-Zell depletierende Therapie mit Rituximab im chronischen Fatigue-Syndrom bei GPCR-Ak gezeigt wurde [80].

Für Rituximab ist eine Reduktion der mittleren IgG-Spiegel bekannt [131], so wurde beispielsweise bei der ANCA-assoziierten Vaskulitis unter Rituximab-Therapie ein Absinken der IgG-Werte von im Mittel 6 % pro Monat in der Einleitungsphase und 0,6 % pro Jahr in der Erhaltungsphase nachgewiesen [32]. Interessanterweise war eine Rituximab-Therapie in der vorliegenden Arbeit nicht mit veränderten Ak-Spiegeln assoziiert. Möglicherweise ist die Stichprobengröße mit $n = 15$ SSc-Patienten unter Rituximab-Therapie zu klein, um derartige Unterschiede festzustellen. Alternativ könnte auch eine Relationsverschiebung zwischen unterschiedlichen IgG-Ak diese Diskrepanz erklären. So könnte ein Absinken der Gesamt-IgG-Zahl durch einen Anstieg des Anteils an GPCR-, GF- und GF-R-Ak maskiert werden.

Desweiteren könnten vasoaktive Medikamente über die Konkurrenz am Rezeptor die GPCR-Ak Spiegel verändern, dies ist unter anderem denkbar für Betablocker an den Beta-Adrenozeptoren, ERA am ETAR oder für AT1R-Antagonisten am AT1R. In den explorativen Analysen waren für diese Kombinationen jedoch keine Tendenzen bezüglich Ak-Veränderungen zu erkennen, während die Einnahme von ACE-Hemmern mit erhöhten AT1R-, ETAR-, ADRA1-, PAR1- und niedrigeren M5R-Ak-Spiegeln assoziiert war. Insgesamt hängen messbare Effekte der Medikamente wahrscheinlich von der Pharmakokinetik, -dynamik und -genetik ab (z. B. vom Zeitpunkt der Medikamentenapplikation und der Blutentnahme oder dem Medikamentenstoffwechsel), eine Tatsache, die wir in dieser Studie nicht untersucht haben.

Somit ist die Aussagekraft der vorliegenden Studie auf die Deskription von Ak-Veränderungen einer norddeutschen SSc-Kohorte im Behandlungskontext limitiert. Um Veränderungen in Ak-Spiegeln und -Korrelationen unabhängig von Therapieeffekten auf die SSc-Pathophysiologie zurückführen zu können, wäre hingegen die Untersuchung eines therapienaiven Patientenkollektivs aussagekräftiger, dies ist jedoch aufgrund der Seltenheit der Erkrankung nicht realisierbar.

4.1.2 Klinische Charakterisierung der SSc-Patienten

Zur klinischen Charakterisierung der SSc-Patienten wurden epidemiologische und SSc-charakteristische Parameter sowie Medikation und Komorbiditäten erhoben, die typischerweise in nationalen und internationalen SSc-Studien verwendet

werden [63,87]. Diese Parameter wurden retrospektiv aus den in der klinischen Routine angelegten Patientenakten extrahiert. Aufgrund der Heterogenität der SSc-Erkrankung können die für die Krankheitsbeurteilung erforderlichen Items in einer problemorientierten Visite abweichen [57], obwohl die Patientenvorstellung angelehnt an die internationalen diagnostischen Empfehlungen [57] und die DNSS-Empfehlungen [64] erfolgt. Dementsprechend werden nicht in jedem Patientenkontakt alle Symptome und Parameter aktiv erfragt. Dies kann zu einer Unterdiagnostik führen und den teilweise hohen Anteil fehlender Werte erklären. Auf der anderen Seite werden Patienten mit einer hohen Vortestwahrscheinlichkeit häufiger diagnostischen Maßnahmen zugeführt [31,35]. Relativ zu der Anzahl an Untersuchungen kann dies zu einer Überschätzung der Krankheitslast führen [49]. Die weiche Definition des Studienzeitraumes orientiert am Probenentnahmestichtag $\pm$ drei Monaten sowie die Inter- und Extrapolation fehlender Angaben soll derartigen Verzerrungen entgegenwirken. Allerdings nimmt diese gleichzeitig den Einschluss von veralteten Daten oder von zum Studienzeitpunkt noch nicht aufgetretenen Manifestationen in Kauf.

4.1.2.1 Morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen

Die Einschätzung der zusammenfassenden Organbeteiligungen erfolgte in der Studienkohorte anhand des klinischen Gesamtbildes sowie den ICD-kodierten Diagnosen. Diese Methode unterscheidet sich von dem gängigen Studienverfahren, die zusammenfassenden Beurteilungen ausschließlich anhand einer festgelegten Symptom- und Untersuchungsparameter-Liste zu definieren [21,63,87,95,100,126].

Das abweichende Vorgehen wurde gewählt, da durch das Gesamtbild von klinischen Befunden und Diagnosen vor allem die kardialen und pulmonalen Organbeteiligungen besser eingeschätzt werden konnten. Deren zusammenfassende Beurteilung nimmt in der klinischen Routine eine wichtige Rolle ein, da die frühe Identifikation die Mortalität erheblich senkt und das therapeutische Regime beeinflusst [72,96]. Dementsprechend sind die Parameter gut dokumentiert, wohingegen Organmanifestations-definierende Listen aufgrund fehlender Einzelparameter zu einem lückenhafteren Bild geführt hätten.

Die Trennwerte für quantitative Parameter wurden basierend auf klinischen Referenzwerten festgelegt, dieses Vorgehen ist eine etablierte Methode in der Beschreibung von SSc-Kollektiven [21,64,87]. Eine Ausnahme bildet der Trennwert

[21,59] des sPAP welcher auf 25mmHg gesetzt wurde und somit unterhalb gängiger Cut-Offs von 40mmHg liegt [21,57]. Dieses abweichende Vorgehen war aufgrund der geringen Anzahl von sPAP-Werten > 40mmHg notwendig, bei Festlegung des sPAP-Grenzwertes auf < 40 mmHg wäre mit gewählten statistischen Verfahren keine Analyse möglich gewesen. Allerdings sind die Ergebnisse des sPAPs somit nur bedingt mit anderen Studien vergleichbar. Die gewählten Parameter sind etabliert in der Beschreibung und Detektion von SSc-bedingten Funktionseinschränkungen, dennoch sollte berücksichtigt werden, dass auch andere Erkrankungen oder Medikamente zu pathologischen Ergebnissen führen können. Das NT-proBNP kann beispielsweise bei Herzbeteiligung der SSc, PAH, Herzinsuffizienz, VHF oder Therapie mit dem kardiotoxischen Cyclophosphamids erhöht sein [15,125].

Insgesamt ist die Aussagekraft für die Parameter mit einer allgemeinen klinischen und therapeutischen Relevanz wie die Herz- und Lungenbeteiligung sowie die PAH in der vorliegenden Studie hoch, wohingegen sie für die vorrangig problemorientiert erhobenen Befunde eingeschränkt ist. Für die quantitativen Parameter ist die Datenqualität erheblich von der Anzahl fehlender Werte abhängig.

Zur Beurteilung der Parameter, welche nur in einer reduzierten Qualität erhoben werden konnten, wäre für Folgestudien die Anwendung eines prospektiven Studiendesigns, basierend auf einer standardisierten Patientenbefragung und Untersuchung, zu diskutieren.

4.1.3 Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe wurden Seren von Blutspendern verwendet. Durch den Blutspenderfragebogen und die ärztliche Aufsicht der Blutspende ist sichergestellt, dass die Blutspender nicht an schwerwiegenden oder akuten Erkrankungen leiden [97]. Daher stehen außer Alter und Geschlecht keine weiteren klinischen Informationen zu den Probanden zur Verfügung. Bei der Rekrutierung der Gesundkontrollen wurde ein Alters- und Geschlechtsmatching zum bestehenden SSc-Kollektiv angestrebt, dies gelang bei n = 60 HC (69 %).

4.1.4 Probenaufbereitung und Messung

Die Aufbereitung und Lagerung der Serumproben im Forschungslabor des Institutes für Rheumatologie und klinische Immunologie UKSH Campus Lübeck erfolgte nach

Standard Operating Procedure am Tag der Probenentnahme. Die Probenlagerungszeit ist konsistent zu anderen Studien nicht mit den Ak-Levels korreliert [48,101], mit Ausnahme der sENG-Ak und PDGF-BB-Ak. Die HC und SSc-Serumproben wurden je Ak gemeinsam auf eine ELISA-Platte aufgetragen und anhand der gleichen Standardkurve ausgewertet. Das Risiko für systematische Abweichungen zwischen HC- und SSc-Serenproben wurde durch räumlich, personell und strukturell analoge Probenaufbereitung und Messung in der Präanalytik und Analytik minimiert.

Obwohl die Verwendung von ELISAs bei der Messung von GPCR-Ak als etabliertes Verfahren gilt [19,20], ist die Aussagekraft limitiert. Für gegen AT1R, ETAR, ADRA1, ADRA2, ADRB1, ADRB2 und M1R-M5R gerichtete Ak wurden für die Humandiagnostik zertifizierte und zugelassene ELISAs verwendet. Assays der weiteren untersuchten Ak werden derzeit nur zu Forschungszwecken eingesetzt [130] und können als solche eine hohe Variabilität aufweisen [81]. Zudem ist es ein gängiges Verfahren in der Entwicklung von Immunassays, für die noch keine aufgereinigten Ak zur Verfügung stehen, anhand von gepoolten Probandenseren für jede Messplatte eine neue Standardkurve zu generieren [48]. Dementsprechend können analysebedingt die Ergebnisse verschiedener Messplatten und Studien abweichen, insbesondere wenn ein längerer Zeitraum zwischen den Messungen liegt und verschiedene Probandenseren gepoolt werden.

Weiterhin erlauben ELISA-Assays weder eine Aussage zu der Funktionalität und Wirkung der Ak noch über deren Avidität und Bindungsaffinität zum Target [19,20]. Möglicherweise werden niedrige Ak-Konzentrationen durch eine hohe Bindungsaffinität kompensiert und umgekehrt [126]. Zudem werden häufig rekombinante Antigene eingesetzt, denen die native Konformation der GPCRs fehlt [20].

Um Zusammenhänge zwischen Ak-Konzentrationen und deren agonistischer oder antagonistischer Funktionen zu erheben, wären weiterführende Untersuchungen wie beispielsweise funktionelle Bioassays zur Bestimmung der Signaltransduktion nach intrazellulär oder luminometrische Methoden notwendig [20,38,102].

4.1.5 Statistische Auswertung

Zunächst erfolgte eine explorative Basisstatistik., dabei wurde auf multiples Testen verzichtet, um Tendenzen herauszuarbeiten und Hypothesen zu generieren. Die einzelnen p-Werte sollten aus diesem Grund jedoch nicht überschätzt werden.

Anschließend wurden die Daten zuerst vom IMBS und anschließend vom LIED analysiert. Diese unabhängig voneinander durchgeführten Datenauswertungen sind eine große Stärke der vorliegenden Arbeit und ermöglichen eine bessere Differenzierung von statistischen Artefakten und tatsächlichen Phänomenen. Als unterstützende Faktoren wurden zudem verschiedene Präprozessierungs-Verfahren bezüglich Normalisierung und fehlender Werte angewandt.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Deskriptive klinische Charakterisierung der SSc-Patienten

Für 87 % der SSc-Patienten sind die ACR/EULAR-Kriterien [58] erfüllt, dies spricht für ein relativ homogenes Patientenkollektiv mit typischen SSc-Charakteristika. Die Stichprobengröße ist mit $n = 177$ für eine seltene Erkrankung hoch und gut geeignet, das Erkrankungsbild der SSc in seiner Heterogenität abzubilden. Wesentliche Merkmale sind in der vorliegenden Arbeit ähnlich verteilt wie im DNSS-Patientenregister [63]. So liegt der Altersmedian in der Studienkohorte bei 57 Jahren (DNSS: 56 Jahre) und die ANA-Positivrate bei 91 % (DNSS: 90%), die Quote weiblicher Patienten ist in unserer Arbeit mit 79 % etwas geringer (DNSS 5:1) [63].

Obwohl der Anteil an dSSc-Patienten in der vorliegenden Arbeit analog zu den DNSS-Daten 33 % beträgt, ist der Anteil von ISSc-Patienten im Studienkollektiv mit 67 % erheblich höher (DNSS: 46 %) [63]. Ein Teil dieser Diskrepanz lässt sich durch die separate Auswertung der Kategorien „Overlap-Syndrom“, „SSc ohne Sklerodermie“ und „undifferenzierte Kollagenose“ in den Registerdaten erklären [63]. Patienten mit einer undifferenzierten Kollagenose wurden aus der vorliegenden Arbeit ausgeschlossen und Patienten der beiden anderen Entitäten anhand der LeRoy-Kriterien [79] der ISSc und dSSc zugeordnet. Dennoch ist in der vorliegenden Arbeit das von LeRoy beschriebene Verhältnis von 3:2 zwischen ISSc und dSSc [79] zugunsten der ISSc verschoben. Passend dazu ist der mediane mRSS von fünf in der Studienkohorte etwas niedriger als in den Registerdaten mit einem Median von neun.

4.2.1.1 Organbeteiligungen

Die mortalitäts- und morbiditätsbestimmenden Manifestationen Lungenfibrose, Herzbeteiligung und PAH treten in der vorliegenden Arbeit in einer ähnlichen Frequenz zu größeren SSc-Kohorten auf [63,87] und deuten auf ein schwerkrankes Patientenkollektiv hin. Im Detail liegen die Prävalenzen für PAH mit 11 % und Lungenfibrose mit 28 % unterhalb derer des DNSS-Patientenregisters mit PAH: 16 % und Lungenfibrose: 35 % [63], die Herzbeteiligung tritt mit 19 % in der Studienkohorte häufiger auf (DNSS: 15 %) [63]. Diese Unterschiede lassen sich durch statistische Schwankungen und die formal unterschiedlichen Definitionen der Organbeteiligungen erklären. Möglicherweise liegt in der Studienkohorte auch ein leicht abweichendes Erkrankungsmuster vor. Ein Argument für Letzteres wäre der höhere ISSc-Anteil und der geringere mediane mRSS bei den SSc-Patienten.

Die deskriptiven Ergebnisse der Funktionsparameter FVC, NT-proBNP und sPAP unterstreichen das Bild des schwerkranken Patientenkollektivs. Deren genaue Verteilung weicht jedoch mit Ausnahme des NT-proBNP von größeren SSc-Kohorten ab. So beträgt die mediane FVC im Studienkollektiv 86 %, in der Literatur schwanken die Angaben zwischen 91 % und 98 % [14,87,113,126]. Ursächlich für diese Diskrepanz könnte der mit 34 % hohe Anteil fehlender FVC-Angaben (mutmaßlich von den Patienten ohne pulmonale Beschwerden) im Studienkollektiv sein. Dieser führt möglicherweise zu einer Überschätzung der Krankheitslast, wenn aufgrund der problemorientierten Visite vorrangig die kränkeren Patienten einer Lungenfunktionsuntersuchung zugeführt wurden. Dass bei den Patienten im Studienkollektiv tatsächlich eine schwerere FVC-Einschränkung vorliegt, erscheint in Anbetracht des tendenziell geringeren Anteils an Lungenfibrose-Patienten eher unwahrscheinlich.

Der mediane sPAP liegt mit 20 mmHg unterhalb von größeren SSc-Kollektiven mit Medianen zwischen 27 mmHg und 35 mmHg [14,87,113]. Dies lässt sich durch den geringeren Anteil an PAH-Patienten im Studienkollektiv erklären, weiterhin könnte der Umgang mit fehlenden Werten einen Einfluss haben. In der vorliegenden Arbeit wurde für Patienten mit einer echokardiografisch normalen Rechtsherzfunktion, zu denen der sPAP Wert bei fehlender Trikuspidalinsuffizienz nicht messbar war, eine Auswertungshöhe von sPAP = 10 mmHg festgelegt. Dieses Vorgehen wurde auf n = 45 Patienten angewandt und beeinflusst den Median somit relativ stark.

Die morbiditätsbestimmende Manifestation „kritisch akrale Minderperfusion“ [60], welche in der Studienkohorte bei 62 % der Patienten vorliegt, wurde in der Literatur nur selten zusammenfassend erhoben. Besser dokumentiert ist das Vorliegen von „aktiven digitalen Ulzerationen“, für diese ist in der Literatur ein Prävalenzbereich zwischen 15 bis 25 % beschrieben [63,87,117], in unserer SSc-Kohorte lagen diese zum Studienzeitpunkt bei 20 % der Patienten vor.

4.2.2 Assoziationen zwischen Autoantikörpern und SSc

Unsere Analysen zeigen Assoziationen zwischen klinischen Befunden und hochgradig verwandten Ak-Gruppen. Die Identifikation von spezifischen, für die Manifestation verantwortlichen Ak ist durch die hohen Korrelationen und Ähnlichkeiten erschwert.

Bei der SSc sind 20 von 28 gemessenen Autoantikörperwerten im Vergleich zu Gesunden in den explorativen U-Tests mit $p < 0,05$ verändert, in den logistischen Regressionsmodellen trifft dies noch auf 19 Ak zu. Dabei sind übereinstimmend zu Cabral-Marques et al. einige der Ak-Level bei der SSc erhöht, für andere liegen niedrigere Spiegel vor [19]. Für einzelne Ak weichen die Ergebnisse jedoch ab. So sind bei Cabral-Marques et al. die M2R-Ak-Level bei SSc erniedrigt [19], während diese in dieser Studie tendenziell höher sind. Für PAR1-Ak und PAR2-Ak konnte hier kein Unterschied zwischen HC und SSc nachwiesen werden, während diese bei Cabral-Marques et al. erhöht waren [19]. Für M4R-Ak liegen kongruent in beiden Studien niedrigere Level bei der SSc vor [19].

Möglicherweise sind diese Diskrepanzen durch strukturelle Abweichungen zwischen den untersuchten Kollektiven wie Altersunterschiede, Therapieunterschiede oder unterschiedliche Erkrankungsmuster der SSc-Patienten bedingt, daneben könnten auch verschiedene Studienorte, Studienzeitpunkte sowie die Präanalytik oder Analytik eine Rolle spielen.

Die SSc-Kollektive weisen eine ähnliche Alters- und Geschlechtsverteilung auf, so liegt das mediane Alter bei 57 bzw. 56 Jahren und der Anteil weiblicher Patienten bei 79 % bzw. 83 %. In den HC ist der Frauenanteil mit 59 % bzw. 66 % ebenfalls ähnlich, das Alter weicht jedoch deutlich ab. Mit einem medianen Alter von 40 Jahren sind die Gesundkontrollen der vorliegenden Arbeit deutlich jünger als in Cabral-Marques et al. mit dem Altersmedian der HC von 59 Jahren [19]. Dieser Altersunterschied könnte zu diskrepanten Ergebnissen beitragen, da die Ak-Level

bekannterweise neben Erkrankungen und Geschlecht auch vom Alter beeinflusst werden [19,92].

Weiterhin könnten die unterschiedlichen Studienzeitpunkte kombiniert mit der hohen Dynamik der Therapieentwicklung die Ak-Level beeinflusst und somit zu den Diskrepanzen beitragen haben. Dabei könnte das Erscheinen des „Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis“ [72] im November 2016 eine Rolle gespielt haben. Das Datum dieses Updates legt nahe, dass die therapeutischen Regime zwischen den Kollektiven abweichen, da die Patienten der vorliegenden Studie größtenteils Monate bis Jahre nach Erscheinung des Updates in die vorliegende Studie eingeschlossen wurden, während die Serenentnahmen in Cabral-Marques et al. vor dem Erscheinungszeitpunkt lagen [19].

Darüber hinaus wurden die Studien an verschiedenen Standorten durchgeführt: Von Cabral-Marques et al. wurden Proben aus Berlin und Lübeck verwendet [19], in der vorliegenden Studie stammen alle Proben aus Lübeck. Demzufolge könnten sich die Proben auch in der Präanalytik unterscheiden. Von der Arbeitsgruppe wurde ein solcher ortsabhängiger Unterschied zuvor in einer weiteren Analyse nachgewiesen (nicht publiziert, Quelle: Laborbesprechung). Eine weitere Erklärung für die diskrepanten Ergebnisse könnten die Anwendung abweichender Standardkurven und die hohe Varianz einiger ELISAs sein [48,81], letztere wurde von Lund et al. unter anderem für M2R-Ak beschrieben [81].

Dennoch zeigen sowohl die Ergebnisse von Cabral-Marques et al. [19] als auch die Untersuchungen der vorliegenden Studie, dass die Ak-Level abhängig von der SSc-Erkrankung verändert sind und diese Veränderungen nicht zufällig auftreten.

4.2.2.1 Autoantikörper als Biomarker für die SSc

Sowohl in der ROC-Analyse als auch nach RF-Klassifikator sind FGF-Ak, ADRB1-Ak und PIGF-Ak prädiktiv zur Vorhersage der SSc. Dabei weisen FGF-Ak in beiden Modellen den höchsten Prädiktionswert auf, gefolgt von ADRB1-Ak. PIGF-Ak sind in der ROC-Analyse sowie dem RF-Klassifikator ebenfalls von hoher Aussagekraft, weisen jedoch eine niedrigere Spezifität auf und sind auch für das RF-Vorhersagemodell weniger relevant.

FGF umfassen eine Familie mit 23 Mitgliedern, die über verschiedene Bindungskombinationen an ihren vier Hauptrezeptoren eine Vielfalt von Effekten erzeugen können. Sie spielen unter anderem eine wichtige Rolle in der Homöostase

und Aktivierung der Fibroblasten [29], welche pathophysiologisch die größte Rolle in der SSc assoziierten Fibrose spielen. In der vorliegenden Arbeit wurden gegen FGF-2, auch bekannt als basic-FGF, gerichtete Ak bestimmt. FGF-2 ist präsent in Basalmembranen und in der subendothelialen extrazellulären Matrix von Blutgefäßen, und seine kontrollierte Freisetzung spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation von Fibrose und Angiogenese [28].

Bisherige Studien erbrachten kontroverse Ergebnisse bezüglich des FGF-2-Serumspiegels bei SSc-Patienten. Während Distler et al. [36] und Lawrence et al. [77] keinen Unterschied zwischen SSc-Patienten und Kontrollen nachweisen konnten, waren die FGF-2-Serumspiegel in Untersuchungen von Kadono et al. [66] sowie Hummers et al. [61] bei der SSc signifikant erhöht. Dabei unterschieden sich die Studien insbesondere bezüglich der untersuchten Stichprobengrößen. Im Vergleich zu Distler et al. mit $n = 43$ SSc-Patienten und $n = 7$ HC [36] sowie Lawrence et al. mit $n = 30$ SSc-Patienten und $n = 23$ HC [77] waren die Stichproben von Kadono et al. mit $n = 74$ SSc-Patienten und $n = 20$ HC [66] sowie Hummers et al. mit $n = 113$ SSc-Patienten und $n = 27$ HC [61] deutlich größer.

In der vorliegenden Arbeit waren die Spiegel gegen FGF-2 gerichteter Ak bei unseren SSc-Patienten höher als bei den Kontrollen und wiesen darüber hinaus einen hohen prädiktiven Wert für die Vorhersage der SSc auf. Allerdings ließ sich kein Zusammenhang zwischen den FGF-Ak-Werten und weiteren klinischen Parametern wie unter anderem Lungenfibrose, Herzbeteiligung, PAH und $FVC < 80\%$ feststellen.

Kongruent dazu wurde weder von Hummers et al. [61] noch von Distler et al. [36] eine Assoziation zwischen den FGF-2-Spiegeln und der Klinik nachgewiesen. Kadono et al. fand lediglich eine erhöhte Inzidenz von positiven CENP-B-Ak bei den Patienten mit hohem FGF-2-Spiegel sowie eine Korrelation zwischen FGF-2 und dem Plasmaendothelin. Weitere klinische Parameter waren ebenfalls nicht mit den FGF-2-Spiegeln assoziiert [66]. Zusammengenommen deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die Dysregulation der FGF-2- und FGF-2-Ak-Serumspiegel ein gemeinsames Merkmal aller SSc-Patienten ist.

Welche Rolle der hier detektierten Hochregulation von FGF-2-Ak in der SSc Pathogenese zukommt, sollte in weiteren Studien untersucht werden. Von Lawrence et al. wurde eine erhöhte FGF-2-Expression in Hautbiopsien von SSc-Patienten gefunden [77]. Chujo et al. zeigte in vivo anhand eines Hautfibrose-

Tiermodells, dass FGF-2 die Kollagenexpression erhöht und ein Zusammenhang zum connective tissue GF besteht [28]. Möglicherweise weisen FGF-Ak funktionelle Aktivität auf, wie zuvor für andere GPCR-Ak gezeigt [20,52,69,124], und tragen damit zur vermehrten Kollagenproduktion bei.

Neben veränderten FGF-2-Spiegeln wurden in vorherigen SSc-Studien Konzentrationsveränderungen diverser weiterer Wachstumsfaktoren, wie unter anderem von PlGF, beschrieben [61,85]. PlGF ist ein vielseitiges Zytokin, das über Bindung und Aktivierung des VEGF-R1 die Angiogenese durch direkte oder indirekte Mechanismen stimulieren kann. Darüber hinaus spielt PlGF eine entscheidende Rolle bei der Entzündungsmodulation [34]. In vivo wurde gezeigt, dass Typ-17-T-Helfer-Zellen PlGF exprimieren und PlGF die Differenzierung dieser Zellen beeinflusst. In einem Mausmodell für Kollagen-induzierte Arthritis wurde darüber hinaus gezeigt, dass eine Überexpression von PlGF die Krankheitsschwere der Kollagen-induzierten Arthritis und die IL-17-Produktion erhöht [129]. PlGF fördern weiterhin die Immuntoleranz in der Schwangerschaft und sind an der Einnistung und Entwicklung der Plazenta beteiligt [34]. Bei Schwangeren wurden PlGF-Ak gefunden und weiterführend nachgewiesen, dass die Level dieser Ak, wie auch die PlGF-Level bei Präeklampsie niedriger sind [89].

PlGF-Plasmaspiegel sind in der SSc erhöht und darüber hinaus mit dSSc und der Entwicklung einer PAH assoziiert [85]. Kongruent dazu zeigen unsere Daten bei den SSc-Patienten erhöhte Spiegel der gegen PlGF gerichteten Autoantikörper. Im U-Test sind höhere PlGF-Ak-Spiegel zudem mit dSSc assoziiert, dieser Unterschied erreicht in der Regressionsanalyse jedoch keine Signifikanz. Darüber hinaus deuten unsere Daten auf einen prädiktiven Wert der PlGF-Ak in der SSc-Vorhersage hin. Von Riemekasten et al. wird postuliert, das Antibodiom spiegele die chronische GPCR-Expression [106]. Unsere Ergebnisse könnten weiterführend darauf hindeuten, dass sich auch die GF-Expression im Antibodiom widerspiegelt. Dafür sprechen sowohl die kongruent zu vorherigen FGF-2-Studien [61,66] veränderten FGF-2-Ak als auch die ähnlichen Assoziationen der PlGF- und PlGF-Ak-Spiegel.

Der dritte Autoantikörper mit einem hohen prädiktiven Wert für die SSc ist gegen ADRB1 gerichtet. Die entsprechenden Ak-Spiegel eignen sich sowohl in der ROC-Analyse als auch im RF zur Klassifizierung und Vorhersage der SSc. In der altersadjustierten logistischen Regressionsanalyse ist jedoch nur ein schwach

positiver Zusammenhang zwischen den ADRB1-Ak-Leveln und der SSc nachweisbar. Auch die weiteren Assoziationen zwischen ADRB1-Ak-Spiegeln und klinischen SSc-Manifestationen sind zwar in den U-Tests deutlich ausgeprägt, in den altersadjustierten Regressionsanalysen ist der Effekt hingegen nur noch schwach nachweisbar. Diese Abweichungen zwischen den unterschiedlichen statistischen Methoden deuten darauf hin, dass die Bedeutung der ADRB1-Ak stark vom Alter abhängt. Der Einfluss des Alters auf den prädiktiven Wert der Ak lässt sich anhand unserer Analysen nur unzureichend beurteilen, da weder die ROC-Analyse noch der Random Forest altersadjustiert durchgeführt wurden. Die Ergebnisstruktur der weiteren Adrenozeptor-Analysen legt jedoch nahe, dass auch die Vorhersagemodelle für ADRB1-Ak von Alterseffekten getrieben werden.

Zusammenfassend deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass FGF-2-Ak und PIGF-Ak als neue Biomarker in der SSc-Diagnostik fungieren könnten. Dies sollte in einer weiteren Kohorte validiert und in vitro auf pathophysiologische Relevanz untersucht werden. Die Bedeutung von ADRB1-Ak als SSc-Biomarker sollte anhand von altersspezifischen Analysen ermittelt werden.

4.2.3 Assoziationen zwischen Autoantikörpern und SSc-Manifestationen

4.2.3.1 Autoantikörperveränderungen bei Vaskulopathie und Inflammation

Für die meisten Ak weisen dSSc-Patienten höhere Spiegel auf als ISSc-Patienten. Auch Herz- und Lungenbeteiligung, sowie laborparametrische Entzündungszeichen sind mit höheren Ak-Spiegeln assoziiert. Bei der PAH und echokardiographisch eingeschränkter Herzfunktion sowie dem Raynaud-Syndrom hingegen sind die Ak-Spiegel zumeist niedriger. Zuvor wurden in einem anderen SSc-Kollektiv erniedrigte PAR1-, PAR2- und ETAR-Ak-Level bei SSc-Patienten mit Troponin T-Erhöhung gezeigt [13], sodass davon auszugehen ist, dass diese Veränderungen nicht zufällig auftreten.

Möglicherweise reflektieren die manifestationsabhängigen Veränderungsrichtungen die vaskulopathischen und die entzündlichen Pathomechanismen bei der SSc. So beruhen sowohl die dSSc als auch Herz- und Lungenbeteiligung vorrangig auf entzündlichen Veränderungen, wohingegen die PAH und das Raynaud-Syndrom vordergründig vaskulopathisch bedingt sind [110]. Kongruent dazu waren bei Cabral-Marques et al. bei der Granulomatose mit Polyangiitis, einer

Vaskulitis-Form, die getesteten GPCR-Ak durchweg erniedrigt, während beim vorrangig inflammatorischen systemischen Lupus erythematoses durchweg höhere GPCR-Ak-Spiegel nachweisbar waren [19]. Darüber hinaus wurden von Ernst et al. beim akuten Koronarsyndrom niedrigere ADRB1-Ak-Level gefunden [41]. Dies zeigt, dass auch weitere kardiovaskuläre Pathologien mit niedrigeren Ak-Levels assoziiert sind. Interessanterweise waren auch bei den an kardiovaskulären Komorbiditäten aHTN und VHF SSc-Patienten dieser Kohorte die Ak-Level tendenziell niedriger.

Sowohl bei der PAH, als auch dem Raynaud-Syndrom und dem akuten Koronarsyndrom spielen hypoxische Vorgänge eine wichtige Rolle. Weiterhin wurde das Absinken von PAR1-Ak bei Patientinnen mit primär epitheliale Ovarialkarzinom nachgewiesen, einer Erkrankung bei der ebenfalls hypoxische Prozesse ablaufen [73]. Diese Gemeinsamkeit könnte darauf hindeuten, dass die Hypoxie eine zentrale Rolle beim Absinken der GPCR-, GF- und GF-R-Ak-Spiegel einnimmt. Weiterhin ist eine veränderte Expression der GPCR, GF und GF-R bei der Hypoxie bekannt, so wurde unter anderem eine erhöhte Ausschüttung von Molekülen der VEGF-Familie, CXCR4 und Endothelin nachgewiesen [76]. Konkret bei der PAH sind die Veränderungen der GPCR-Expression derzeit noch nicht eindeutig geklärt. So zeigten beispielsweise verschiedene Studien modellabhängige entgegengesetzte Veränderungen der ETAR, ETBR und AT1R-Expression [123]. Basierend auf diesen gegensätzlichen Veränderungen sind verschiedene Hypothesen zum Absinken der Ak-Spiegel denkbar: Unter der Annahme von Riemekasten et al., dass Antikörper spiegelte die chronische GPCR-Expression [106], deutet ein Absinken bei kardiovaskulären bzw. hypoxischen Pathologien darauf hin, dass unter diesen Bedingungen GPCR vermindert exprimiert werden. Dies wird in den niedrigeren Ak-Levels widerspiegelt. Eine alternative Erklärung wäre, dass bei kardiovaskulären bzw. hypoxischen Pathologien einige GPCR, GF und GF-R vermehrt exprimiert werden. Durch die vermehrte Rezeptoranzahl können mehr Ak binden, sodass die Anzahl freier Ak im Serum abnimmt.

4.2.3.2 Veränderungen ausgewählter Autoantikörper

Die Level der gut charakterisierten AT1R-Ak und ETAR-Ak [20] sind analog zu den Ergebnissen von Riemekasten et al. [107] stark untereinander korreliert und bei der SSc höher als bei den HC. Weiterhin weisen ISSc-Patienten kongruent zu

Riemekasten et al. niedrigere AT1R-Ak- und ETAR-Ak-Level auf [107], in der logistischen Regression kommt diesen Ak-Spiegeln bezüglich der Verlaufsform die höchste Effektstärke zu. Im U-Test sind die Ak-Spiegel zudem bei Herzbeteiligung und Lungenfibrose erhöht, allerdings erreicht dieser Unterschied in der Regressionsanalyse der Lungenfibrose keine Signifikanz.

Möglicherweise ist diese Signifikanzverfehlung durch eine geringere Stichprobengröße begründet, dafür sprechen die tendenziell in die gleiche Richtung abweichenden Mediane in den einzelnen Gruppen. Zudem könnte der Einschluss von mit ERA und AT1R-Antagonisten behandelten Patienten eine Rolle spielen. Solche Patienten wurden aus vorherigen Studien ausgeschlossen und für diese Medikamente wurde von der Arbeitsgruppe kürzlich eine Reduktion entsprechender Ak-Level gezeigt (Sebastian Klapa, unpublizierte Daten).

Die ebenfalls gut charakterisierten CXCR3-Ak und CXCR4-Ak sind übereinstimmend mit Weigold et al. [126] untereinander und CXCR3-Ak zudem negativ mit der FVC korreliert. Abweichend waren bei uns keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen HC versus SSc, dSSc versus ISSc und SSc-Patienten mit Lungenfibrose versus SSc-Patienten ohne Lungenfibrose nachweisbar. Dies ist wahrscheinlich ebenfalls durch die im Vergleich zu Weigold et al. [126] geringere Stichprobengröße bedingt.

Neben den gut charakterisierten ETAR-Ak und AT1R-Ak sind in der vorliegenden Arbeit insbesondere gegen M1R, M2R, C5aR und ETBR gerichtete Ak bei den morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Manifestationen auffällig verändert. Diese vier Autoantikörper weisen in den Regressionsanalysen erhöhte Konzentrationen in den Lungenfibrose- und Scl-70-Ak-Modellen auf. Die CENP-B-Ak-Modelle und mit Ausnahme der ETBR-Ak auch die ISSc-Modelle zeigen hingegen erniedrigte Ak-Konzentrationen. Im U-Test wurden zudem bei SSc-Patienten mit Herzbeteiligung höhere Spiegel dieser vier Ak nachgewiesen, ein Regressionsmodell war auf diese Manifestation aufgrund der unbalancierten Daten nicht anwendbar. Darüber hinaus tragen die vier Ak in der PCA erheblich zur Ausbildung der PCs 1 und 2 bei, welche wiederum mit dSSc, Lungenfibrose und Herzbeteiligung assoziiert sind.

Zusammengefasst deuten die Ergebnisse unterschiedlicher statistischer Verfahren auf einen Zusammenhang zwischen den morbiditäts- und mortalitätsassoziierten

Manifestationen der SSc mit veränderten M1R-, M2R-, ETBR- und C5aR-Ak-Spiegeln hin.

Adrenozeptor-Ak sind in den Hauptkomponentenanalysen ähnlich mit klinischen Manifestationen der SSc assoziiert, wie die gegen M1R, M2R, ETBR und C5aR gerichteten Ak. In den altersadjustierten Regressionsanalysen sind die Effekte der Adrenozeptor-Ak allerdings kaum noch nachweisbar. Dies deutet darauf hin, dass das Alter bei diesen Ak von Bedeutung ist. Eine Altersabhängigkeit wurde zuvor von Ernst et al. für ADRB1-Ak-Spiegel nach Auftreten eines Myokardinfarktes gezeigt [40]: Während niedrige ADRB1-Ak-Spiegel bei unter 60-jährigen mit einer höheren Rate kardiovaskulärer Ereignisse und Reinfarkten assoziiert sind, treten diese bei älteren Patienten weitgehend unabhängig von der Ak-Konzentration auf. Für einen altersabhängigen Zusammenhang spricht weiterhin, die mit zunehmendem Alter sinkende Adrenozeptor-Dichte und -Antwort [44]. Dies ist verbunden mit einer Veränderung der G-Proteine sowie der Kinasen, welche zu einer Rezeptordesensibilisierung beitragen [44]. Möglicherweise führen die Rezeptordesensibilisierung sowie die direkte Modifikation der G-Proteine zu abweichenden Autoantikörperspiegeln, welche sich über eine quantitative Analyse nicht ausreichend beurteilen lassen. So könnten sich bei Jüngeren bereits niedrige Ak-Spiegel auswirken, während bei Älteren der gleiche Effekt erst bei höheren Spiegeln eintritt. Eine mögliche Erklärung für die abweichenden Ergebnisse ist somit eine unterschiedliche Bedeutung veränderter Adrenozeptor-Ak-Spiegel in verschiedenen Altersgruppen. Zum genaueren Verständnis dieser Bedeutung wären funktionale und altersabhängige Analysen notwendig.

Die hierarchischen Clusteranalysen zeigen, dass die besonders auffällig mit klinischen Manifestationen der SSc assoziierten Ak zwei Ak-Korrelationsclustern angehören. Eine Gruppe bilden M1R-Ak, ADRB1-Ak und ADRB2-Ak aus, in der anderen Gruppe befinden sich C5aR-Ak, ETBR-Ak und M2R-Ak. In einem anderen SSc-Kollektiv wurden zuvor ähnliche Cluster nachgewiesen. In diesem waren ebenfalls M1R-Ak, ADRB1-Ak und ADRB2-Ak in einem Cluster, sowie C5aR und ETBR-Ak eng vernetzt [19].

Zusammenhänge zwischen diesen Ak sind jedoch nicht SSc spezifisch, sondern treten auch bei HC und anderen Erkrankungen wie Alzheimer und Herzinsuffizienz und HC auf [19,48,81].

4.2.3.3 Autoantikörper als Biomarker für SSc-Manifestationen

Trotz der Zusammenhänge zwischen Ak und SSc-Phänotyp eignen sich die Ak in der vorliegenden Studie nicht, um morbiditäts- und mortalitätsbestimmende Manifestationen der SSc sicher vorherzusagen. Für die meisten der untersuchten Manifestationen erreichen die Ak-Level weder im Random Forest noch in den kreuzvalidierten ROC-Analysen einen hohen Prädiktionswert.

Für eine NT-proBNP-Erhöhung sowie einen sPAP > 25 mmHg liegen einige Ak in den ROC-Analysen oberhalb des Vorhersageschwellenwertes einer AUC > 65 %. Dies sind unter anderem M1R-Ak bei einer NT-proBNP-Erhöhung sowie M1R-Ak, M2R-Ak und C5aR-Ak bei einem sPAP > 25 mmHg. Jedoch lässt sich der prädiktive Wert dieser Ak in den entsprechenden Random Forests nicht bestätigen. Zudem wäre bei einem tatsächlichen Marker für die bekannten Organmanifestationen zu erwarten, dass dieser konsequentere Verknüpfungen zu den für diese Manifestation relevanten klinischen Merkmalen zeigt. Für die Vorhersage der PAH wäre dies beispielsweise ein Zusammenhang mit der NT-proBNP-Erhöhung, der sPAP-Erhöhung sowie der PAH direkt. Solche konsequenten Zusammenhänge bezüglich des prädiktiven Wertes zeigt keiner der untersuchten Ak.

Analog dazu sind zwar einige Ak in den ROC-Analysen prädiktiv bezüglich der Biomarker Scl-70-Ak und CENP-B-Ak, jedoch sind diese weder in den ROC-Analysen noch in den entsprechenden Random Forests prädiktiv bezüglich der SSc-Verlaufsform sowie den mRSS.

Zusammengenommen sind die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Ak weder einzeln noch kombiniert dazu geeignet, die morbiditäts- und mortalitätsbestimmenden Manifestationen der SSc vorherzusagen. Dies ist möglicherweise auf unvollständige Daten und zu geringe n-Zahlen zurückzuführen. Eine andere Erklärung wäre, dass den unterschiedlichen Erkrankungsmanifestationen ähnliche pathophysiologische Mechanismen zugrunde liegen, weshalb die manifestationsabhängigen Unterschiede in den Ak-Spiegeln nicht ausreichen, diese sicher vorherzusagen.

4.2.4 Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken

Es wird postuliert, dass die Ak natürlicher Bestandteil des Immunsystems sind und miteinander im Sinn eines Netzwerkes wechselwirken, welches abhängig von individuellen Faktoren wie Alter, Geschlecht und Erkrankungen unterschiedliche

Signaturen ausbildet [19]. Weiterhin wird angenommen, dass eine Netzwerk-Dysregulation die Entwicklung von Autoimmunerkrankungen auslösen kann [106]. In der vorliegenden Arbeit unterscheiden sich die Korrelationsmuster der Ak-Netzwerke abhängig von HC und SSc, zudem ist die Netzwerksignatur abhängig vom SSc-Phänotyp. Die Diversität in den Netzwerkausprägungen spiegelt dabei die Heterogenität der SSc-Erkrankung wider.

4.2.4.1 Auffällige Korrelationen bei der SSc im Vergleich zu HC

Sowohl in HC als auch in SSc sind VEGF-A-Ak und AT1R-Ak untereinander stark korreliert, andere Korrelationen sind hingegen in der Erkrankung verändert. Drei dieser veränderten Korrelationen (M4R-Ak und VEGF-A-Ak, M4R-Ak und VEGF-R1-Ak und M4R-Ak und PlGF-Ak) sind dabei übereinstimmend mit den Daten aus Cabral-Marques et al. [19] in der SSc stärker ausgeprägt verglichen mit HC. Trotz der abweichenden Methodik bei der Erstellung der kreisförmigen Korrelationsdiagramme (s. Tab. 4-1) sind die Tendenzen studienübergreifend nachweisbar und in dieser Arbeit sowohl für die Spearman- als auch die Pearson-Korrelationen signifikant. Damit bestätige ich anhand einer unabhängigen Kohorte, dass diese Korrelationen nach wie vor bestehen und nicht zufällig auftreten.

Tabelle 4-1: Methodischer Vergleich der Erstellung kreisförmiger Korrelationsdiagramme von Autoantikörpernetzwerken mit Cabral-Marques et al. [19]

	Sterner	Cabral-Marques et al. [19]
Normalisierungsverfahren	Box-Cox Powertransformation	-
Korrelationsberechnung	Pearson	Spearman
Korrektur für multiples Testen	Bonferroni ($\alpha < 0,05$)	-
Untergrenze für Korrelationen	-	Korrelationen $> 0,6$ sind gezeigt
Stichprobengröße	SSc: n = 177; HC: n = 88	SSc: n = 84; HC: n = 193

Für die zwei weiteren auffälligen Korrelationen bei der SSc, welche zwischen AT1R-Ak und VEGFR2-Ak sowie AT1R-Ak und C5aR-Ak vorliegen, ist aufgrund fehlender Daten in Cabral-Marques et al. [19] kein studienübergreifender Vergleich möglich, dementsprechend sollten diese Zusammenhänge in einer weiteren Kohorte validiert werden.

Für die entsprechenden Antigene der korrelierten Ak sind verschiedene pathophysiologische Zusammenhänge beschrieben. Insbesondere der Zusammenhang zwischen AT1R und der Signalisierung der vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF) ist gut untersucht. So wurde in Rattenherz-Endothelzellen gezeigt, dass Angiotensin II dosis- und zeitabhängig die

VEGF-messenger-Ribonukleinsäure induziert und dass dieser Anstieg mit der Freisetzung von VEGF korreliert ist. Diese Aktivierung lässt sich durch Hinzugabe eines AT1R-Blockers unterdrücken, nicht jedoch durch Blockade des Angiotensin-II-Typ-2-Rezeptors [27]. Weiterführende Studien deuten darauf hin, dass VEGF den proangiogenen Effekt von Angiotensin II vermitteln [119] und dass die Tumorangio-genese ebenfalls über das Angiotensin-II-AT1R-VEGF-System kontrolliert wird [42]. Unter der Annahme, dass die Ak-Level die chronische Rezeptor- und Wachstumsfaktor-Expression widerspiegeln, könnte der enge Zusammenhang zwischen VEGF-A-Ak und AT1R-Ak das Gegenstück zu der Koregulation von AT1R und VEGF darstellen. Diese Ak-Korrelation tritt sowohl in HC als auch in SSc-Patienten auf, was auf einen physiologischen Zusammenhang hindeutet. Die Korrelation zwischen AT1R-Ak und VEGF-R2-Ak ist hingegen in SSc-Patienten stärker ausgeprägt, dies könnte auf eine vermehrte Aktivierung des AT1R-VEGFA-VEGFR2 Signalwegs hindeuten.

In der vorliegenden SSc-Kohorte sind gegen Moleküle der VEGF-Signalisierung gerichtete Ak weiterführend auch mit M4R-Ak korreliert. Dabei deuten die Korrelationsanalysen darauf hin, dass M4R und AT1R jeweils unterschiedliche Anteile der VEGF-Signalisierung beeinflussen. Während mit M4R-Ak korrelierte Ak vorrangig gegen die PlGF-VEGFR1-Signalachse gerichtet sind, hängen AT1R-Ak stärker mit gegen die VEGFA-VEGFR2-Signalachse gerichteten Ak zusammen.

Interaktionen zwischen Muskarinrezeptoren und vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren wurden zuvor in Astrozyten [70] sowie infarzierten Herzen [82] gezeigt. In beiden Fällen führte eine Stimulation der Muskarinrezeptoren zur vermehrten Ausschüttung von VEGF-A [70,82].

Distler et al. wies für VEGF-R2 in einer histochemischen Untersuchung an SSc-Hautbiopsien eine erhöhte Anzahl exprimierender Endothelzellen und eine höhere Färbungsintensität als bei VEGF-R1 nach [37]. Interessanterweise zeigen die logistische Regressionsanalyse sowie die U-Tests unserer Arbeit passend dazu in der SSc niedrigere VEGF-R1-Ak-Level verglichen mit HC, während die VEGF-R2-Ak-Level tendenziell erhöht sind, möglicherweise ist auch das Verhältnis der Rezeptoren zueinander dysreguliert.

Die Korrelation zwischen AT1R-Ak und C5aR-Ak könnte weiterführend auf eine veränderte Downstream-Mediation von AT1R in SSc-Patienten hindeuten. Es wird angenommen, dass eine erhöhte Produktion von Angiotensin II und die Aktivierung

von AT1R mit einer proinflammatorischen Reaktion über die Aktivierung der Komplementkaskade einschließlich C5a einhergehen kann. Dies impliziert einen Cross-Talk zwischen der Angiotensin II - AT1R-Achse und dem Komplementsystem [83]. In der SSc könnte ein solcher Mechanismus zur Dysregulation des Immunsystems beitragen.

Somit unterstützen meine Ergebnisse frühere Berichte, dass sowohl eine Dysregulation der VEGF- [33,37,84] als auch der AT1R-Signalisierung [20,33,107] zur Pathogenese der SSc beitragen könnten.

4.2.4.2 Korrelation der ETAR-Ak und ADRB2-Ak bei Lungenfibrose

Bei SSc-Patienten mit Lungenfibrose liegt ein verstärkter positiver Zusammenhang zwischen ETAR-Ak und ADRB2-Ak vor. Dieser lässt sich nach Pearson weder in HC noch in SSc-Patienten ohne Lungenfibrose oder mit einer FVC > 80 % nachweisen. Eine solche manifestationsabhängige Korrelationsuntersuchung wurde meines Wissens in unserer Studie zum ersten Mal bei SSc-Patienten durchgeführt, sodass keine Vergleichsdaten für die Ak-Korrelationen vorliegen.

Bezüglich der Antigene wurde von Lamyel et al. gezeigt, dass humane Lungenfibroblasten selektiv Beta-2-Adrenozeptoren exprimieren und dass diese eine Hemmung verschiedener profibrotischer Prozesse vermitteln. Im Gegensatz dazu werden Beta-1- und Beta-3-Adrenozeptoren von diesen Zellen nicht transkribiert [74]. Weiterführend wurde von Racké et al. an humanen Lungenfibroblasten gezeigt, dass ET-1 die Beta-2-Adrenozeptor Transkription stimuliert und dass dies durch die Hinzugabe von ERA verhindert werden kann. Dies deutet auf eine spezifische Endothelin-Rezeptor-vermittelte Wirkung hin [103]. Umgekehrt führt die Blockade der Beta-2-Adrenozeptoren zur verminderten ET-1-Produktion [104]. Bei der SSc spielen Apoptose-resistente Myofibroblasten eine wichtige Rolle in der Entstehung der Lungenfibrose [18]. Zudem ist bekannt, dass sowohl ET-1 als auch ETAR-Ak über ETAR inflammatorische, proliferative und profibrotische Effekte vermitteln [20,69].

Zusammenfassend deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass die neu bei Lungenbeteiligung der SSc-Patienten auftretende Korrelation von ETAR-Ak und ADRB2-Ak, auf eine Dysregulation der Lungenfibroblasten zurückzuführen sein könnte. Unter der Annahme, dass GPCR-Ak die chronische GPCR-Expression spiegeln [106], könnten funktionell agonistische ETAR-Ak über Aktivierung der

Endothelin-A-Rezeptoren zur Erhöhung der Beta-2-Adrenozeptoren in Lungenfibroblasten beitragen. Über längere Zeit führt dies wiederum zur Erhöhung von ADRB2-Ak. Umgekehrt könnten funktionell agonistische ADRB2-Ak zur ETAR-Erhöhung und bei chronischer Bindung zur gesteigerten ETAR-Ak beitragen. Allerdings deuten unsere Assoziationsanalysen auch darauf hin, dass die ADRB2-Ak-Spiegel vom Alter abhängen. Möglicherweise zeigen sich in verschiedenen Altersgruppen unterschiedliche Korrelationen und Zusammenhänge, sodass die Aussagekraft unsere Studie an dieser Stelle limitiert ist.

4.2.5 Pathophysiologie und funktionelle Wirkung der Autoantikörper

Einige der Ak, wie unter anderem FGF-Ak, welche in unserer Studie interessante Veränderungen bei der SSc aufwiesen, wurden bislang kaum untersucht. Außer bei Cabral-Marques et al., welcher ebenfalls Veränderungen im Antikörpernetzwerk bei der SSc nachweisen konnte, ist dies die erste Studie, welche eine mögliche Relevanz der FGF-Ak bei der SSc aufzeigt. Die weitere Evaluation möglicher pathophysiologischer Hintergründe und der beteiligten Signalwege könnte somit einen weiteren Baustein zum besseren Verständnis der SSc liefern.

Das Konzept der Autoantikörper hat sich seit Anfang des 20. Jahrhunderts, in dem Ak erstmals mit Autoimmunkrankheiten in Verbindung gebracht wurden, bemerkenswert erweitert [19]. Physiologische Mechanismen, die zur Entstehung von natürlichen Ak des Immunglobulin G Typs führen, sind nicht eindeutig geklärt [92]. Der Spiegel natürlicher Ak kann als Reaktion auf die Apoptose von Zellen und die Oxidation von Proteinen steigen [24]. Bei der SSc unterliegen die Endothelzellen einer gesteigerten Apoptose [9], auf der anderen Seite nehmen Apoptose-resistente Myofibroblasten eine wichtige Rolle bei der Fibrose-Entstehung ein [3]. Somit könnten die pathophysiologischen Veränderungen bei der SSc eine erhöhte Produktion von Ak begünstigen und zu einer Dysregulation der Ak-Level und -Korrelationen beitragen.

Neben dem ungeklärten Entstehungsmechanismus ist die physiologische Relevanz, der gegen GPCR und ähnliche Moleküle gerichteten Ak, ebenfalls noch wenig erforscht [19]. Die hohen Korrelationen deuten darauf hin, dass die Ak polyreaktiv sein könnten und an überlappende Epitope auf den verschiedenen Rezeptoren binden [19,48,81]. In unterschiedlichen Erkrankungen wurde eine funktionelle Wirkung einiger der Ak gezeigt. Diese binden krankheitsabhängig an

unterschiedliche Schleifen der GPCR. Zudem wird angenommen, dass die Rezeptorererkennung von den Umweltbedingungen, wie beispielsweise Hypoxie, Ischämie und Entzündung, abhängt [124].

Bei der SSc ist eine Vermittlung pathogener Effekte vorrangig für AT1R-Ak und ETAR-Ak gut untersucht [20,69]. Ein Nachweis agonistischer Aktivität der ADRB1-Ak, ADRB2-Ak und M2R-Ak ist unter anderem bei der Chagas-Krankheit bekannt. ADRB1-Ak und M2R-Ak zeigen zudem agonistische Aktivität bei dilatativer Kardiomyopathie und M2R-Ak und ADRB2-Ak im komplexen regionalen Schmerzsyndrom. Eine inhibitorische Wirkung hingegen ist beispielsweise für ADRB2-Ak beim allergischen Asthma beschrieben [124].

4.3 Ausblick

Die vorliegende Studie zeigt, dass die quantitativen Ak-Spiegel der GPCR-, GF- und GF-R-Ak sowie deren Korrelationsmuster abhängig von SSc-Erkrankung und SSc-Phänotypen sind. Einige der einbezogenen Ak, wie AT1R-Ak und ETAR-Ak sind bereits gut bei der SSc untersucht, wohingegen über die pathophysiologische Funktion weiterer interessanter Ak, wie der prädiktiven FGF-Ak, PIGF-Ak und ADRB1-Ak, sowie den mit den morbiditäts- und mortalitätsassoziierten Manifestationen der SSc assoziierten M1R-, M2R-, ETBR- und C5aR-Ak bislang noch wenig bekannt ist. Für diese Ak sollten qualitative sowie quantitative Unterschiede zwischen SSc-Patienten und HC in zukünftigen Studien weiter untersucht werden. Ein weiterer Bereich wäre die Ermittlung der Krankheitsspezifität ermittelt werden, d.h. ob eine postulierte funktionale Divergenz auch bei anderen fibrosierenden Erkrankungen wie beispielsweise der idiopathischen Lungenfibrose auftritt.

Darüber hinaus sollte in zukünftigen Studien das Gesamt-IgG-Level einbezogen werden, da dieses starken individuellen Schwankungen unterliegt und somit auch Einfluss auf die absoluten Spiegel der GPCR-Ak, GF-Ak und GF-R-Ak haben könnte. So wurden höhere Gesamt-IgG-Level bei Frauen als bei Männern nachgewiesen, zudem steigt das Level mit dem Alter an [92]. Um Veränderungen im Ak-Muster deutlicher herauszuarbeiten, könnte eine Quotientenbildung aus Ak und Gesamt-IgG hilfreich sein.

5 Zusammenfassung

Morbidität und Mortalität der systemischen Sklerose (SSc) sind hoch und werden weitgehend durch vaskuläre und fibrotische Pathologien bestimmt. Vorherige Studien haben gezeigt, dass sich gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und verwandte Moleküle gerichtete Autoantikörper durch Krankheits-spezifische Signaturen auszeichnen und die Autoantikörper-Konzentrationen bei der systemischen Sklerose im Vergleich zu Gesundkontrollen verändert sind [19].

Ziel dieser Arbeit war, Zusammenhänge zwischen klinischen Manifestationen der SSc und Signaturen neuer Autoantikörper, welche sich gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und verwandte Moleküle richten, zu identifizieren.

Dafür wurden in den Seren von SSc-Patienten (n = 177) und Gesundkontrollen (n = 88) gegen die folgenden Antigene gerichtete Autoantikörper gemessen: G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (adrenerg, muskarinerg, Angiotensin, Endothelin, CXC-Motiv-Chemokin, Komplement, Protease-aktiviert); Wachstumsfaktoren (plazentar, Fibroblasten-2, Platelet-derived); Wachstumsfaktoren und entsprechende Rezeptoren (vaskulär endothelial, epithelial, Hepatozyten).

Die Stärke dieser Arbeit liegt in der für eine seltene Erkrankung großen Kohorte, der klinisch sehr ausführlichen Charakterisierung und der komplexen statistischen Analyse mittels verschiedener bioinformatischer und biostatistischer Methoden.

Diese Arbeit liefert folgende neue Erkenntnisse: Die Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke unterscheiden sich zwischen Gesundkontrollen und SSc-Patienten, zudem ist die Netzwerksignatur abhängig vom Phänotyp der Erkrankung. Die Diversität in den Netzwerkausprägungen spiegelt dabei die Heterogenität der Erkrankung wider.

Gegen Fibroblasten-Wachstumsfaktoren-2, plazentare Wachstumsfaktoren und beta-1-Adrenorezeptoren gerichtete Autoantikörper weisen einen hohen prädiktiven Wert für die SSc auf. Des Weiteren sind diffus-kutane Verlaufsform, Herz- und Lungenbeteiligung mit höheren Autoantikörper-Spiegeln assoziiert.

Einige der Korrelationsveränderungen bei der SSc stimmen in ihrer Tendenz mit zuvor publizierten Daten überein [19]. Damit bestätige ich anhand einer unabhängigen Kohorte, dass diese Korrelationen bestehen und nicht zufällig auftreten. Assoziationen mit morbiditäts- und mortalitätsbestimmender Organbeteiligung weisen auf eine mögliche funktionelle Relevanz und neue pathophysiologische Mechanismen hin.

6 Literaturverzeichnis

- [1] D. Abraham, O. Distler, How does endothelial cell injury start? The role of endothelin in systemic sclerosis, *Arthritis Res Ther.* 9 (2007) S2.
- [2] S. Adler, D. Huscher, E. Siegert, Y. Allanore, L. Czirják, F. DelGaldo, C.P. Denton, O. Distler, M. Frerix, M. Matucci-Cerinic, U. Mueller-Ladner, I.-H. Tarner, G. Valentini, U.A. Walker, P.M. Villiger, G. Riemekasten, Systemic sclerosis associated interstitial lung disease - individualized immunosuppressive therapy and course of lung function: results of the EUSTAR group, *Arthritis Res Ther.* 20 (2018) 17.
- [3] Y. Allanore, R. Simms, O. Distler, M. Trojanowska, J. Pope, C.P. Denton, J. Varga, Systemic sclerosis, *Nature Reviews Disease Primers.* 1 (2015) 1–21.
- [4] K. Andréasson, T. Saxne, C. Bergknut, R. Hesselstrand, M. Englund, Prevalence and incidence of systemic sclerosis in southern Sweden: population-based data with case ascertainment using the 1980 ARA criteria and the proposed ACR-EULAR classification criteria, *Ann Rheum Dis.* 73 (2014) 1788–1792.
- [5] A. Antonelli, S.M. Ferrari, D. Giuggioli, E. Ferrannini, C. Ferri, P. Fallahi, Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases, *Autoimmun Rev.* 13 (2014) 272–280.
- [6] M.C. Arias-Núñez, J. Llorca, T.R. Vazquez-Rodriguez, I. Gomez-Acebo, J.A. Miranda-Fillo, J. Martin, C. Gonzalez-Juanatey, M.A. Gonzalez-Gay, Systemic Sclerosis in Northwestern Spain: A 19-year Epidemiologic Study, *Medicine.* 87 (2008) 272–280.
- [7] F.C. Arnett, M. Cho, S. Chatterjee, M.B. Aguilar, J.D. Reveille, M.D. Mayes, Familial occurrence frequencies and relative risks for systemic sclerosis (scleroderma) in three United States cohorts, *Arthritis Rheum.* 44 (2001) 1359–1362.
- [8] F. Artmann, C. Hader, K.H. Rühle, K. Rasche, Die Diffusionskapazität in der täglichen Praxis, *Atemwegs- und Lungenkrankheiten.* 35 (2009) 10–17.
- [9] Y. Asano, The Pathogenesis of Systemic Sclerosis: An Understanding Based on a Common Pathologic Cascade across Multiple Organs and Additional Organ-Specific Pathologies, *J Clin Med.* 9 (2020) 2687.
- [10] J. Avouac, U. Walker, A. Tyndall, A. Kahan, M. Matucci-Cerinic, Y. Allanore, Characteristics of Joint Involvement and Relationships with Systemic Inflammation in Systemic Sclerosis: Results from the EULAR Scleroderma Trial and Research Group (EUSTAR) Database, *The Journal of Rheumatology.* 37 (2010) 1488–1501.
- [11] J. Barnes, M.D. Mayes, Epidemiology of systemic sclerosis: incidence, prevalence, survival, risk factors, malignancy, and environmental triggers, *Curr Opin Rheumatol.* 24 (2012) 165–170.

- [12] A. Benigni, P. Cassis, G. Remuzzi, Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging, *EMBO Mol Med.* 2 (2010) 247–257.
- [13] H. Bittern, A. Carvalho-Marques, O. Cabral-Marques, C. Fouodo, I. König, H. Heidecke, G. Riemekasten, S. Schinke, OP0005 Patterns of 31 new autoantibodies against g protein-coupled receptors and growth factors in systemic sclerosis can be described by latent factors, *Annals of the Rheumatic Diseases.* 77 (2018) 51–52.
- [14] S. Bosello, G. De Luca, G. Berardi, G. Canestrari, C. de Waure, F.A. Gabrielli, C. Di Mario, F. Forni, E. Gremese, G. Ferraccioli, Cardiac troponin T and NT-proBNP as diagnostic and prognostic biomarkers of primary cardiac involvement and disease severity in systemic sclerosis: A prospective study, *Eur J Intern Med.* 60 (2019) 46–53.
- [15] W. van Boxtel, B.F. Bulten, A.M.C. Mavinkurve-Groothuis, L. Bellersen, C.M.P.W. Mandigers, L. a. B. Joosten, L. Kapusta, L.F. de Geus-Oei, H.W.M. van Laarhoven, New biomarkers for early detection of cardiotoxicity after treatment with docetaxel, doxorubicin and cyclophosphamide, *Biomarkers.* 20 (2015) 143–148.
- [16] S.A. Butt, J.L. Jeppesen, C. Fuchs, M. Mogensen, M. Engelhart, C. Torp-Pedersen, G.H. Gislason, S. Jacobsen, C. Andersson, Trends in incidence, mortality, and causes of death associated with systemic sclerosis in Denmark between 1995 and 2015: a nationwide cohort study, *BMC Rheumatology.* 2 (2018) 36.
- [17] A. Bynke, P. Julin, C.-G. Gottfries, H. Heidecke, C. Scheibenbogen, J. Bergquist, Autoantibodies to beta-adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in Myalgic Encephalomyelitis (ME) patients – A validation study in plasma and cerebrospinal fluid from two Swedish cohorts, *Brain, Behavior, & Immunity - Health.* 7 (2020) 100107.
- [18] A. van Caam, M. Vonk, F. van den Hoogen, P. van Lent, P. van der Kraan, Unraveling SSc Pathophysiology; The Myofibroblast, *Front Immunol.* 9 (2018) 2452.
- [19] O. Cabral-Marques, A. Marques, L.M. Gil, R. De Vito, J. Rademacher, J. Günther, T. Lange, J.Y. Humrich, S. Klapa, S. Schinke, L.F. Schimke, G. Marschner, S. Pitann, S. Adler, R. Dechend, D.N. Müller, I. Braicu, J. Sehouli, K. Schulze-Forster, T. Trippel, C. Scheibenbogen, A. Staff, P.R. Mertens, M. Löbel, J. Mastroianni, C. Plattfaut, F. Gieseler, D. Dragun, B.E. Engelhardt, M.J. Fernandez-Cabezudo, H.D. Ochs, B.K. al-Ramadi, P. Lamprecht, A. Mueller, H. Heidecke, G. Riemekasten, GPCR-specific autoantibody signatures are associated with physiological and pathological immune homeostasis, *Nature Communications.* 9 (2018) 5224.
- [20] O. Cabral-Marques, G. Riemekasten, Functional autoantibodies targeting G protein-coupled receptors in rheumatic diseases, *Nature Reviews Rheumatology.* 13 (2017) 648–656.

- [21] P.E. Carreira, L. Carmona, B.E. Joven, E. Loza, J.L. Andreu, G. Riemekasten, S. Vettori, A. Balbir-Gurman, P. Airò, U.A. Walker, N. Damjanov, M. Matucci-Cerinic, L.P. Ananieva, S. Rednic, L. Czirják, O. Distler, D. Farge, R. Hesselstrand, A. Corrado, P. Caramaschi, M. Tikly, Y. Allanore, the EUSTAR co-authors, Gender differences in early systemic sclerosis patients: a report from the EULAR scleroderma trials and research group (EUSTAR) database, *Clin Exp Rheumatol*. 36 Suppl 113 (2018) 68–75.
- [22] F. Cevikbas, S. Seeliger, M. Fastrich, H. Hinte, D. Metze, C. Kempkes, B. Homey, M. Steinhoff, Role of protease-activated receptors in human skin fibrosis and scleroderma, *Experimental Dermatology*. 20 (2011) 69–71.
- [23] D. Chakraborty, H. Zhu, A. Jüngel, L. Summa, Y.-N. Li, A.-E. Matei, X. Zhou, J. Huang, T. Trinh-Minh, C.-W. Chen, R. Lafyatis, C. Dees, C. Bergmann, A. Soare, H. Luo, A. Ramming, G. Schett, O. Distler, J.H.W. Distler, Fibroblast growth factor receptor 3 activates a network of profibrotic signaling pathways to promote fibrosis in systemic sclerosis, *Sci Transl Med*. 12 (2020) 563.
- [24] M.-K. Chang, C.J. Binder, Y.I. Miller, G. Subbanagounder, G.J. Silverman, J.A. Berliner, J.L. Witztum, Apoptotic Cells with Oxidation-specific Epitopes Are Immunogenic and Proinflammatory, *J Exp Med*. 200 (2004) 1359–1370.
- [25] H. Chiffot, B. Fautrel, C. Sordet, E. Chatelus, J. Sibilia, Incidence and Prevalence of Systemic Sclerosis: A Systematic Literature Review, *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 37 (2008) 223–235.
- [26] A. Chrysanthopoulou, I. Mitroulis, K. Kambas, P. Skendros, I. Kourtzelis, S. Vradelis, G. Kolios, S. Aslanidis, M. Doumas, K. Ritis, Tissue factor–thrombin signaling enhances the fibrotic activity of myofibroblasts in systemic sclerosis through up-regulation of endothelin receptor A, *Arthritis & Rheumatism*. 63 (2011) 3586–3597.
- [27] C.C. Chua, R.C. Hamdy, B.H.L. Chua, Upregulation of vascular endothelial growth factor by angiotensin II in rat heart endothelial cells, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 1401 (1998) 187–194.
- [28] S. Chujo, F. Shirasaki, M. Kondo-Miyazaki, Y. Ikawa, K. Takehara, Role of connective tissue growth factor and its interaction with basic fibroblast growth factor and macrophage chemoattractant protein-1 in skin fibrosis, *J Cell Physiol*. 220 (2009) 189–195.
- [29] J. Clarke, FGF signalling enters the SSc arena, *Nat Rev Rheumatol*. 16 (2020) 665.
- [30] P. Clements, P. Lachenbruch, J. Siebold, B. White, S. Weiner, R. Martin, A. Weinstein, M. Weisman, M. Mayes, D. Collier, Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis, *J Rheumatol*. 22 (1995) 1281–1285.
- [31] J.G. Coghlan, C.P. Denton, E. Grünig, D. Bonderman, O. Distler, D. Khanna, U. Müller-Ladner, J.E. Pope, M.C. Vonk, M. Doelberg, H. Chadha-Boreham, H. Heinzl, D.M. Rosenberg, V.V. McLaughlin, J.R. Seibold, Evidence-based

detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study, *Ann Rheum Dis.* 73 (2014) 1340–1349.

- [32] F.B. Cortazar, W.F. Pendergraft III, J. Wenger, C.T. Owens, K. Laliberte, J.L. Niles, Effect of Continuous B Cell Depletion With Rituximab on Pathogenic Autoantibodies and Total IgG Levels in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody–Associated Vasculitis, *Arthritis & Rheumatology.* 69 (2017) 1045–1053.
- [33] M. Cutolo, S. Soldano, V. Smith, Pathophysiology of systemic sclerosis: current understanding and new insights, *Expert Review of Clinical Immunology.* 15 (2019) 753–764.
- [34] S. De Falco, The discovery of placenta growth factor and its biological activity, *Exp Mol Med.* 44 (2012) 1–9.
- [35] C.P. Denton, D. Khanna, Systemic sclerosis, *Lancet.* 390 (2017) 1685–1699.
- [36] O. Distler, A. del Rosso, R. Giacomelli, P. Cipriani, M.L. Conforti, S. Guiducci, R.E. Gay, B.A. Michel, P. Brühlmann, U. Müller-Ladner, S. Gay, M. Matucci-Cerinic, Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of the earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers, *Arthritis Res.* 4 (2002) R11.
- [37] Distler Oliver, Distler Jörg H. W., Scheid Annette, Acker Till, Hirth Astrid, Rethage Janine, Michel Beat A., Gay Renate E., Müller-Ladner Ulf, Matucci-Cerinic Marco, Plate Karl H., Gassmann Max, Gay Steffen, Uncontrolled Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptors Leads to Insufficient Skin Angiogenesis in Patients With Systemic Sclerosis, *Circulation Research.* 95 (2004) 109–116.
- [38] D. Dragun, J.H.W. Distler, G. Riemekasten, O. Distler, Stimulatory autoantibodies to platelet-derived growth factor receptors in systemic sclerosis: What functional autoimmunity could learn from receptor biology, *Arthritis & Rheumatism.* 60 (2009) 907–911.
- [39] M. Elhai, C. Meune, M. Boubaya, J. Avouac, E. Hachulla, A. Balbir-Gurman, G. Riemekasten, P. Airò, B. Joven, S. Vettori, F. Cozzi, S. Ullman, L. Czirják, M. Tikly, U. Müller-Ladner, P. Caramaschi, O. Distler, F. Iannone, L.P. Ananieva, R. Hesselstrand, R. Becvar, A. Gabrielli, N. Damjanov, M.J. Salvador, V. Riccieri, C. Mihai, G. Szücs, U.A. Walker, N. Hunzelmann, D. Martinovic, V. Smith, C. de S. Müller, C.M. Montecucco, D. Opris, F. Ingegnoli, P.G. Vlachoyiannopoulos, B. Stamenkovic, E. Rosato, S. Heitmann, J.H.W. Distler, T. Zenone, M. Seidel, A. Vacca, E.D. Langhe, S. Novak, M. Cutolo, L. Mouthon, J. Henes, C. Chizzolini, C.A. von Mühlen, K. Solanki, S. Rednic, L. Stamp, B. Anic, V.O. Santamaria, M. De Santis, S. Yavuz, W.A. Sifuentes-Giraldo, E. Chatelus, J. Stork, J. van Laar, E. Loyo, P. García de la Peña Lefebvre, K. Eyerich, V. Cosentino, J.J. Alegre-Sancho, O. Kowal-Bielecka, G. Rey, M. Matucci-Cerinic, Y. Allanore, EUSTAR group, Mapping and predicting mortality from systemic sclerosis, *Ann Rheum Dis.* 76 (2017) 1897–1905.

- [40] D. Ernst, J. Westerbergh, G. Sogkas, A. Jablonka, G. Ahrenstorf, R.E. Schmidt, H. Heidecke, L. Wallentin, G. Riemekasten, T. Witte, Lowered anti-beta1 adrenergic receptor antibody concentrations may have prognostic significance in acute coronary syndrome, *Sci Rep.* 9 (2019) 14552 .
- [41] D. Ernst, C. Widera, D. Weiberg, T. Derlin, G. Ahrenstorf, G. Sogkas, A. Jablonka, R.E. Schmidt, T. Witte, H. Heidecke, G. Riemekasten, Beta-1-Adrenergic Receptor Antibodies in Acute Coronary Syndrome: Is Less Sometimes More?, *Front Cardiovasc Med.* 5 (2018) 170.
- [42] F. Fan, C. Tian, L. Tao, H. Wu, Z. Liu, C. Shen, G. Jiang, Y. Lu, Candesartan attenuates angiogenesis in hepatocellular carcinoma via downregulating AT1R/VEGF pathway, *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 83 (2016) 704–711.
- [43] E. Farhadi, M. Mahmoudi, F. Rahmani, B. Yousefi, A. Sarafnejad, H. Kavosi, E. Karimizadeh, A. Jamshidi, F. Gharibdoost, Attenuation of aquaporin-3 and epidermal growth factor receptor expression and activation in systemic sclerosis dermal fibroblasts, *J Cell Physiol.* 234 (2019) 12876–12883.
- [44] N. Ferrara, K. Komici, G. Corbi, G. Pagano, G. Furgi, C. Rengo, G.D. Femminella, D. Leosco, D. Bonaduce, β -adrenergic receptor responsiveness in aging heart and clinical implications, *Front Physiol.* 4 (2014) 396.
- [45] C. Frantz, J. Avouac, O. Distler, F. Amrouche, D. Godard, A.T. Kennedy, K. Connolly, J. Varga, M. Matucci-Cerinic, Y. Allanore, Impaired quality of life in systemic sclerosis and patient perception of the disease: A large international survey, *Semin Arthritis Rheum.* 46 (2016) 115–123.
- [46] K.W. Frommer, U. Müller-Ladner, Expression and function of ETA and ETB receptors in SSc, *Rheumatology (Oxford).* 47 Suppl 5 (2008) v27-28.
- [47] T. Fujii, M. Mashimo, Y. Moriwaki, H. Misawa, S. Ono, K. Horiguchi, K. Kawashima, Physiological functions of the cholinergic system in immune cells, *J Pharmacol Sci.* 134 (2017) 1–21.
- [48] L.M. Giil, D. Aarsland, K. Hellton, A. Lund, H. Heidecke, K. Schulze-Forster, G. Riemekasten, A.O. Vik-Mo, E.K. Kristoffersen, C.A. Vedeler, J.E. Nordrehaug, Antibodies to Multiple Receptors are Associated with Neuropsychiatric Symptoms and Mortality in Alzheimer's Disease: A Longitudinal Study, *J. Alzheimers Dis.* 64 (2018) 761–774.
- [49] U. Glenck, D. Pewsner, H.C. Bucher, Evidence-Based Medicine: How to Read an Article about a Diagnostic Test, *HED.* 1 (2001) 207–214.
- [50] O. Gorlova, J.-E. Martin, B. Rueda, B.P.C. Koeleman, J. Ying, M. Teruel, L.-M. Diaz-Gallo, J.C. Broen, M.C. Vonk, C.P. Simeon, B.Z. Alizadeh, M.J.H. Coenen, A.E. Voskuyl, A.J. Schuerwegh, P.L.C.M. van Riel, M. Vanthuyne, R. van 't Slot, A. Italiaander, R.A. Ophoff, N. Hunzelmann, V. Fonollosa, N. Ortego-Centeno, M.A. González-Gay, F.J. García-Hernández, M.F. González-Escribano, P. Airo, J. van Laar, J. Worthington, R. Hesselstrand, V. Smith, F. de Keyser, F. Houssiau, M.M. Chee, R. Madhok, P.G. Shiels, R. Westhovens, A. Kreuter, E. de Baere, T. Witte, L. Padyukov, A. Nordin, R. Scorza, C.

- Lunardi, B.A. Lie, A.-M. Hoffmann-Vold, Ø. Palm, P. García de la Peña, P. Carreira, J. Varga, M. Hinchcliff, A.T. Lee, P. Gourh, C.I. Amos, F.M. Wigley, L.K. Hummers, J. Hummers, J.L. Nelson, G. Riemekasten, A. Herrick, L. Beretta, C. Fonseca, C.P. Denton, P.K. Gregersen, S. Agarwal, S. Assassi, F.K. Tan, F.C. Arnett, T.R.D.J. Radstake, M.D. Mayes, J. Martin, Identification of Novel Genetic Markers Associated with Clinical Phenotypes of Systemic Sclerosis through a Genome-Wide Association Strategy, *PLoS Genet.* 7 (2011) e1002178.
- [51] J. Günther, A. Kill, M.O. Becker, H. Heidecke, J. Rademacher, E. Siegert, M. Radić, G.-R. Burmester, D. Dragun, G. Riemekasten, Angiotensin receptor type 1 and endothelin receptor type A on immune cells mediate migration and the expression of IL-8 and CCL18 when stimulated by autoantibodies from systemic sclerosis patients, *Arthritis Res Ther.* 16 (2014) R65.
- [52] J. Günther, J. Rademacher, J.M. van Laar, E. Siegert, G. Riemekasten, Functional autoantibodies in systemic sclerosis, *Seminars in Immunopathology.* 37 (2015) 529–542.
- [53] P.M. Hassoun, Lung Involvement in Systemic Sclerosis, *Presse Med.* 40 (2011) e3–e17.
- [54] J. Heeringa, D.A.M. van der Kuip, A. Hofman, J.A. Kors, G. van Herpen, B.H.C. Stricker, T. Stijnen, G.Y.H. Lip, J.C.M. Witteman, Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study, *Eur Heart J.* 27 (2006) 949–953.
- [55] A.L. Herrick, S. Peytrignet, M. Lunt, X. Pan, R. Hesselstrand, L. Mouthon, A.J. Silman, G. Dinsdale, E. Brown, L. Czirják, J.H.W. Distler, O. Distler, K. Fligelstone, W.J. Gregory, R. Ochiel, M.C. Vonk, C. Ancuța, V.H. Ong, D. Farge, M. Hudson, M. Matucci-Cerinic, A. Balbir-Gurman, Ø. Midtvedt, P. Jobanputra, A.C. Jordan, W. Stevens, P. Moinzadeh, F.C. Hall, C. Agard, M.E. Anderson, E. Diot, R. Madhok, M. Akil, M.H. Buch, L. Chung, N.S. Damjanov, H. Gunawardena, P. Lanyon, Y. Ahmad, K. Chakravarty, S. Jacobsen, A.J. MacGregor, N. McHugh, U. Müller-Ladner, G. Riemekasten, M. Becker, J. Roddy, P.E. Carreira, A.L. Fauchais, E. Hachulla, J. Hamilton, M. İnanç, J.S. McLaren, J.M. van Laar, S. Pathare, S.M. Proudman, A. Rudin, J. Sahhar, B. Coppere, C. Serratrice, T. Sheeran, D.J. Veale, C. Grange, G.-S. Trad, C.P. Denton, Patterns and predictors of skin score change in early diffuse systemic sclerosis from the European Scleroderma Observational Study, *Annals of the Rheumatic Diseases.* 77 (2018) 563–570.
- [56] D. Hilger, M. Masureel, B.K. Kobilka, Structure and dynamics of GPCR signaling complexes, *Nature Structural & Molecular Biology.* 25 (2018) 4–12.
- [57] A.-M. Hoffmann-Vold, O. Distler, B. Murray, O. Kowal-Bielecka, D. Khanna, Y. Allanore, Setting the international standard for longitudinal follow-up of patients with systemic sclerosis: a Delphi-based expert consensus on core clinical features, *RMD Open.* 5 (2019) e000826.
- [58] F. van den Hoogen, D. Khanna, J. Fransen, S.R. Johnson, M. Baron, A. Tyndall, M. Matucci-Cerinic, R.P. Naden, T.A. Medsger, P.E. Carreira, G.

- Riemekasten, P.J. Clements, C.P. Denton, O. Distler, Y. Allanore, D.E. Furst, A. Gabrielli, M.D. Mayes, J.M. van Laar, J.R. Seibold, L. Czirjak, V.D. Steen, M. Inanc, O. Kowal-Bielecka, U. Müller-Ladner, G. Valentini, D.J. Veale, M.C. Vonk, U.A. Walker, L. Chung, D.H. Collier, M.E. Csuka, B.J. Fessler, S. Guiducci, A. Herrick, V.M. Hsu, S. Jimenez, B. Kahaleh, P.A. Merkel, S. Sierakowski, R.M. Silver, R.W. Simms, J. Varga, J.E. Pope, 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 72 (2013) 1747–1755.
- [59] L. Host, M. Nikpour, A. Calderone, P. Cannell, J. Roddy, Autologous stem cell transplantation in systemic sclerosis: a systematic review, *Clinical and Experimental Rheumatology*. (2017) 10.
- [60] M. Hughes, Y. Allanore, L. Chung, J.D. Pauling, C.P. Denton, M. Matucci-Cerinic, Raynaud phenomenon and digital ulcers in systemic sclerosis, *Nat Rev Rheumatol*. 16 (2020) 208–221.
- [61] L.K. Hummers, A. Hall, F.M. Wigley, M. Simons, Abnormalities in the Regulators of Angiogenesis in Patients with Scleroderma, *J Rheumatol*. 36 (2009) 576–582.
- [62] N. Hunzelmann, S. Eming, S. Rosenkranz, Wachstumsfaktoren, *Z Rheumatol*. 66 (2007) 290, 292–296.
- [63] N. Hunzelmann, E. Genth, T. Krieg, W. Lehmacher, I. Melchers, M. Meurer, P. Moinzadeh, U. Müller-Ladner, C. Pfeiffer, G. Riemekasten, E. Schulze-Lohoff, C. Sunderkoetter, M. Weber, M. Worm, P. Klaus, A. Rubbert, K. Steinbrink, B. Grundt, R. Hein, K. Scharffetter-Kochanek, R. Hinrichs, K. Walker, R.-M. Szeimies, S. Karrer, A. Müller, C. Seitz, E. Schmidt, P. Lehmann, I. Foeldvari, F. Reichenberger, W.L. Gross, A. Kuhn, M. Haust, K. Reich, M. Böhm, P. Saar, G. Fierlbeck, I. Kotter, H.-M. Lorenz, N. Blank, K. Grafenstein, A. Juche, E. Aberer, G. Bali, C. Fiehn, R. Stadler, V. Bartels, The registry of the German Network for Systemic Scleroderma: frequency of disease subsets and patterns of organ involvement, *Rheumatology*. 47 (2008) 1185–1192.
- [64] N. Hunzelmann, E. Genth, T. Krieg, M. Meurer, I. Melchers, P. Moinzadeh, C. Pfeiffer, G. Riemekasten, E. Schulze-Lohoff, C. Sunderkoetter, U. Müller-Ladner, Organspezifische Diagnostik von Patienten mit systemischer Sklerodermie: Empfehlungen des Deutschen Netzwerkes für Systemische Sklerodermie (DNSS), *Zeitschrift Für Rheumatologie*. 67 (2008).
- [65] V.K. Jaeger, E.G. Wirz, Y. Allanore, P. Rossbach, G. Riemekasten, E. Hachulla, O. Distler, P. Airò, P.E. Carreira, A.B. Gurman, M. Tikly, S. Vettori, N. Damjanov, U. Müller-Ladner, J.H.W. Distler, M. Li, U.A. Walker, the EUSTAR co-Authors, Incidences and Risk Factors of Organ Manifestations in the Early Course of Systemic Sclerosis: A Longitudinal EUSTAR Study, *PLOS ONE*. 11 (2016) e0163894.
- [66] T. Kadono, K. Kikuchi, M. Kubo, M. Fujimoto, K. Tamaki, Serum concentrations of basic fibroblast growth factor in collagen diseases, *J Am Acad Dermatol*. 35 (1996) 392–397.

- [67] Kajihara, Overexpression of hepatocyte growth factor receptor in scleroderma dermal fibroblasts is caused by autocrine transforming growth factor β signaling, *BioScience Trends*. (2012) 136-42.
- [68] D. Khanna, D.E. Furst, P.J. Clements, Y. Allanore, M. Baron, L. Czirjak, O. Distler, I. Foeldvari, M. Kuwana, M. Matucci-Cerinic, M. Mayes, T. Medsger, P.A. Merkel, J.E. Pope, J.R. Seibold, V. Steen, W. Stevens, C.P. Denton, Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis, *J Scleroderma Relat Disord*. 2 (2017) 11–18.
- [69] A. Kill, C. Tabeling, R. Undeutsch, A.A. Köhl, J. Günther, M. Radic, M.O. Becker, H. Heidecke, M. Worm, M. Witzernath, G.-R. Burmester, D. Dragun, G. Riemekasten, Autoantibodies to angiotensin and endothelin receptors in systemic sclerosis induce cellular and systemic events associated with disease pathogenesis, *Arthritis Res Ther*. 16 (2014) R29.
- [70] K. Kimura, K. Matsumoto, H. Ohtake, J.-I. Oka, H. Fujiwara, Endogenous acetylcholine regulates neuronal and astrocytic vascular endothelial growth factor expression levels via different acetylcholine receptor mechanisms, *Neurochem Int*. 118 (2018) 42–51.
- [71] P. Kopp, The TSH receptor and its role in thyroid disease, *Cell Mol Life Sci*. 58 (2001) 1301–1322.
- [72] O. Kowal-Bielecka, J. Fransen, J. Avouac, M. Becker, A. Kulak, Y. Allanore, O. Distler, P. Clements, M. Cutolo, L. Czirjak, N. Damjanov, F. del Galdo, C.P. Denton, J.H.W. Distler, I. Foeldvari, K. Figelstone, M. Frerix, D.E. Furst, S. Guiducci, N. Hunzelmann, D. Khanna, M. Matucci-Cerinic, A.L. Herrick, F. van den Hoogen, J.M. van Laar, G. Riemekasten, R. Silver, V. Smith, A. Sulli, I. Tarnier, A. Tyndall, J. Welling, F. Wigley, G. Valentini, U.A. Walker, F. Zulian, U. Müller-Ladner, Update of EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 76 (2017) 1327–1339.
- [73] K. Kreienbring, A. Franz, R. Richter, D. Dragun, H. Heidecke, D. Müller, M. Mentze, R. Dechend, J. Sehoul, E.I. Braicu, The Role of PAR1 Autoantibodies in Patients with Primary Epithelial Ovarian Cancer, *Anticancer Research*. 38 (2018) 3619–3625.
- [74] F. Lamyel, M. Warnken-Uhlich, W.K. Seemann, K. Mohr, E. Kostenis, A.S. Ahmedat, M. Smit, R. Gosens, H. Meurs, A. Miller-Larsson, K. Racké, The β 2-subtype of adrenoceptors mediates inhibition of pro-fibrotic events in human lung fibroblasts, *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 384 (2011) 133–145.
- [75] R. Lande, E.Y. Lee, R. Palazzo, B. Marinari, I. Pietraforte, G.S. Santos, Y. Mattenberger, F. Spadaro, K. Stefanantoni, N. Iannace, A.M. Dufour, M. Falchi, M. Bianco, E. Botti, L. Bianchi, M. Alvarez, V. Ricciari, M.-E. Truchetet, G. C.L. Wong, C. Chizzolini, L. Frasca, CXCL4 assembles DNA into liquid crystalline complexes to amplify TLR9-mediated interferon- α production in systemic sclerosis, *Nat Commun*. 10 (2019) 1371.

- [76] R. Lappano, D. Rikiracciolo, P. De Marco, S. Avino, A.R. Capello, C. Rosano, M. Maggiolini, E.M. De Francesco, Recent Advances on the Role of G Protein-Coupled Receptors in Hypoxia-Mediated Signaling, *The AAPS Journal*. 18 (2016) 305–310.
- [77] A. Lawrence, D. Khanna, R. Misra, A. Aggarwal, Increased expression of basic fibroblast growth factor in skin of patients with systemic sclerosis, *Dermatology Online Journal*. 12 (2006).
- [78] W. Lenhard, A. Lenhard, Signifikanztests bei Korrelationen. verfügbar unter: <https://www.psychometrica.de/korrelation.html>. Bibergau: Psychometrica. (Tag des Zugriffs: 08.04.2021).
- [79] E. LeRoy, C. Black, R. Fleischmajer, S. Jablonska, K. TR, J. Medsger Thomas, N. Rowell, F. Wollheim, Scleroderma (Systemic Sclerosis): Classification, Subsets and Pathogenesis, *The Journal of Rheumatology*. 15 (1988) 202–5.
- [80] M. Loebel, P. Grabowski, H. Heidecke, S. Bauer, L.G. Hanitsch, K. Wittke, C. Meisel, P. Reinke, H.-D. Volk, Ø. Fluge, O. Mella, C. Scheibenbogen, Antibodies to β adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in patients with Chronic Fatigue Syndrome, *Brain, Behavior, and Immunity*. 52 (2016) 32–39.
- [81] A. Lund, L.M. Giil, G. Slettom, O. Nygaard, H. Heidecke, J.E. Nordrehaug, Antibodies to receptors are associated with biomarkers of inflammation and myocardial damage in heart failure, *International Journal of Cardiology*. 250 (2018) 253–259.
- [82] Y. Lv, S. Zhong, H. Tang, B. Luo, S.-J. Chen, L. Chen, F. Zheng, L. Zhang, L. Wang, X. Li, Y. Yan, Y. Pan, M. Jiang, Y. Zhang, L. Wang, J. Yang, L. Guo, S. Chen, J. Wang, J. Tang, VEGF-A and VEGF-B Coordinate the Arteriogenesis to Repair the Infarcted Heart with Vagus Nerve Stimulation, *CPB*. 48 (2018) 433–449.
- [83] M. Mahmudpour, J. Roozbeh, M. Keshavarz, S. Farrokhi, I. Nabipour, COVID-19 cytokine storm: The anger of inflammation, *Cytokine*. 133 (2020) 155151.
- [84] M. Manetti, S. Guiducci, E. Romano, C. Ceccarelli, S. Bellando-Randone, M.L. Conforti, L. Ibba-Manneschi, M. Matucci-Cerinic, Overexpression of VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, leads to insufficient angiogenesis in patients with systemic sclerosis, *Circ Res*. 109 (2011) e14-26.
- [85] C.A. Mecoli, A.A. Shah, F. Boin, F.M. Wigley, L.K. Hummers, The Utility of Plasma Vascular Biomarkers in Systemic Sclerosis: A Prospective Longitudinal Analysis, *Arthritis Rheumatol*. 72 (2020) 1341–1349.
- [86] A. Meduri, D.V. Di Molfetta, L. Natale, R. Manfredi, Cardiac magnetic resonance in systemic sclerosis patients with cardiac symptoms, *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 21 (2017) 4797–4803.
- [87] F.M.P. Meier, K.W. Frommer, R. Dinser, U.A. Walker, L. Czirjak, C.P. Denton, Y. Allanore, O. Distler, G. Riemekasten, G. Valentini, U. Müller-Ladner, the

EUSTAR co-authors, Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database, *Annals of the Rheumatic Diseases*. 71 (2012) 1355–1360.

- [88] C. Mihai, O. Distler, A.M. Gheorghiu, P.I. Constantin, R. Dobrota, S. Jordan, V. Smith, E. Hachulla, J. Henes, E. Siegert, S. Vettori, U. Müller-Ladner, M. Matucci Cerinic, Y. Allanore, EUSTAR collaborators, Incidence and risk factors for gangrene in patients with systemic sclerosis from the EUSTAR cohort, *Rheumatology (Oxford)*. 59 (2020) 2016–2023.
- [89] K. Moe, H. Heidecke, R. Dechend, A.C. Staff, Dysregulation of circulating autoantibodies against VEGF-A, VEGFR-1 and PlGF in preeclampsia – A role in placental and vascular health?, *Pregnancy Hypertension*. 10 (2017) 83–89.
- [90] K.A.L. Mueller, I.I. Mueller, D. Eppler, C.S. Zuern, P. Seizer, U. Kramer, I. Koetter, M. Roecken, R. Kandolf, M. Gawaz, T. Geisler, J.C. Henes, K. Klingel, Clinical and Histopathological Features of Patients with Systemic Sclerosis Undergoing Endomyocardial Biopsy, *PLOS ONE*. 10 (2015) e0126707.
- [91] C. Nagel, P. Henn, N. Ehlken, A. D’Andrea, N. Blank, E. Bossone, A. Böttger, C. Fiehn, C. Fischer, H.-M. Lorenz, F. Stöckl, E. Grünig, B. Egenlauf, Stress Doppler echocardiography for early detection of systemic sclerosis-associated pulmonary arterial hypertension, *Arthritis Res Ther*. 17 (2015) 165.
- [92] E.P. Nagele, M. Han, N.K. Acharya, C. DeMarshall, M.C. Kosciuk, R.G. Nagele, Natural IgG Autoantibodies Are Abundant and Ubiquitous in Human Sera, and Their Number Is Influenced By Age, Gender, and Disease, *PLOS ONE*. 8 (2013) e60726.
- [93] T. Nakamura, K. Sakai, T. Nakamura, K. Matsumoto, Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor, *J Gastroenterol Hepatol*. 26 Suppl 1 (2011) 188–202.
- [94] S.I. Nihtyanova, C.P. Denton, Autoantibodies as predictive tools in systemic sclerosis, *Nat Rev Rheumatol*. 6 (2010) 112–116.
- [95] S.I. Nihtyanova, B.E. Schreiber, V.H. Ong, D. Rosenberg, P. Moinzadeh, J.G. Coghlan, A.U. Wells, C.P. Denton, Prediction of Pulmonary Complications and Long-Term Survival in Systemic Sclerosis, *Arthritis & Rheumatology*. 66 (2014) 1625–1635.
- [96] S.I. Nihtyanova, E.C. Tang, J.G. Coghlan, A.U. Wells, C.M. Black, C.P. Denton, Improved survival in systemic sclerosis is associated with better ascertainment of internal organ disease: a retrospective cohort study, *QJM*. 103 (2010) 109–115.
- [97] R. Offergeld, M. Heiden, F. Stötzer, H. Northoff, Der einheitliche Spenderfragebogen, (2011).
- [98] D. Pattanaik, M. Brown, B.C. Postlethwaite, A.E. Postlethwaite, Pathogenesis of Systemic Sclerosis, *Front. Immunol*. 6 (2015) 272.

- [99] E.I. Peerschke, W. Yin, B. Ghebrehiwet, Complement Activation on Platelets: Implications for Vascular Inflammation and Thrombosis, *Mol Immunol.* 47 (2010) 2170–2175.
- [100] H. Penn, A.J. Howie, E.J. Kingdon, C.C. Bunn, R.J. Stratton, C.M. Black, A. Burns, C.P. Denton, Scleroderma renal crisis: patient characteristics and long-term outcomes, *QJM.* 100 (2007) 485–494.
- [101] N.L. Petrakis, Biologic banking in cohort studies, with special reference to blood, *Natl Cancer Inst Monogr.* 67 (1985) 193–198.
- [102] B. Preuss, S. Tunaru, J. Henes, S. Offermanns, R. Klein, A novel luminescence-based method for the detection of functionally active antibodies to muscarinic acetylcholine receptors of the M3 type (mAChR3) in patients' sera, *Clin Exp Immunol.* 177 (2014) 179–189.
- [103] K. Racké, L.J. Juergens, I. Schütz, N. Kämpfer, M. Fuhrmann, M. Warnken, Endothelin-1 enhances β 2-adrenoceptor gene transcription in human lung fibroblasts, *Life Sciences.* 91 (2012) 540–543.
- [104] K. Racké, M. Warnken, A.S. Ahmedat, R. Fuhrmann, U.R. Juergens, P. Casarosa, M.P. Pieper, The Long Acting Beta2-Adrenoceptor Agonist Olodaterol Mediates Inhibition Of Prepro-Endothelin-1 Expression In Human Lung Fibroblasts, in: D39. NOVEL THERAPEUTICS IN PULMONARY FIBROSIS, American Thoracic Society, 2011: pp. A6053–A6053.
- [105] A. Recke, A.-K. Regensburger, F. Weigold, A. Müller, H. Heidecke, G. Marschner, C.M. Hammers, R.J. Ludwig, G. Riemekasten, Autoantibodies in Serum of Systemic Scleroderma Patients: Peptide-Based Epitope Mapping Indicates Increased Binding to Cytoplasmic Domains of CXCR3, *Front Immunol.* 9 (2018) 428.
- [106] G. Riemekasten, F. Petersen, H. Heidecke, What Makes Antibodies Against G Protein-Coupled Receptors so Special? A Novel Concept to Understand Chronic Diseases, *Frontiers in Immunology.* 11 (2020) 564526.
- [107] G. Riemekasten, A. Philippe, M. Näther, T. Slowinski, D.N. Müller, H. Heidecke, M. Matucci-Cerinic, L. Czirják, I. Lukitsch, M. Becker, A. Kill, J.M. van Laar, R. Catar, F.C. Luft, G.R. Burmester, B. Hegner, D. Drägan, Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis, *Annals of the Rheumatic Diseases.* 70 (2011) 530–536.
- [108] M. Rubio-Rivas, C. Royo, C.P. Simeón, X. Corbella, V. Fonollosa, Mortality and survival in systemic sclerosis: systematic review and meta-analysis, *Semin Arthritis Rheum.* 44 (2014) 208–219.
- [109] B. Sandmeier, V.K. Jäger, G. Nagy, P.E. Carreira, A. Tzankov, M. Widuchowska, M. Antic, O. Distler, H. Reichert, J.H.W. Distler, U.A. Walker, T. Hügler, Autopsy versus clinical findings in patients with systemic sclerosis in a case series from patients of the EUSTAR database, *Clin Exp Rheumatol.* 33 (2015) S75-79.

- [110] S. Schinke, G. Riemekasten, Systemische Sklerose, *Internist*. 60 (2019) 1251–1269.
- [111] T. Schmeiser, P. Saar, D. Jin, M. Noethe, A. Müller, N. Soydan, P.D. Hardt, C. Jaeger, O. Distler, E. Roeb, R.G. Bretzel, U. Müller-Ladner, Profile of gastrointestinal involvement in patients with systemic sclerosis, *Rheumatol Int*. 32 (2012) 2471–2478.
- [112] H.R. Schumacher, Joint and periarticular involvement in systemic sclerosis, *Clinics in Dermatology*. 12 (1994) 277–282.
- [113] T. Semalulu, L. Rudski, T. Huynh, D. Langleben, M. Wang, Canadian Scleroderma Research Group, M.J. Fritzler, J. Pope, M. Baron, M. Hudson, An evidence-based strategy to screen for pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis, *Semin Arthritis Rheum*. 50 (2020) 1421–1427.
- [114] Y. Shoenfeld, V.A. Ryabkova, C. Scheibenbogen, L. Brinthe, M. Martinez-Lavin, S. Ikeda, H. Heidecke, A. Watad, N.L. Bragazzi, J. Chapman, L.P. Churilov, H. Amital, Complex syndromes of chronic pain, fatigue and cognitive impairment linked to autoimmune dysautonomia and small fiber neuropathy, *Clinical Immunology*. 214 (2020) 108384.
- [115] R.L. Smeets, B.E. Kersten, I. Joosten, C. Kaffa, W. Alkema, H.J.P.M. Koenen, M.C. Vonk, Diagnostic profiles for precision medicine in systemic sclerosis; stepping forward from single biomarkers towards pathophysiological panels, *Autoimmunity Reviews*. 19 (2020) 102515.
- [116] M. Steinhoff, J. Buddenkotte, V. Shpacovitch, A. Rattenholl, C. Moormann, N. Vergnolle, T.A. Luger, M.D. Hollenberg, Proteinase-activated receptors: transducers of proteinase-mediated signaling in inflammation and immune response, *Endocr Rev*. 26 (2005) 1–43.
- [117] C. Sunderkötter, I. Herrgott, C. Brückner, P. Moinzadeh, C. Pfeiffer, J. Gerss, N. Hunzelmann, M. Böhm, T. Krieg, U. Müller-Ladner, E. Genth, E. Schulze-Lohoff, M. Meurer, I. Melchers, G. Riemekasten, DNSS Centers, Comparison of patients with and without digital ulcers in systemic sclerosis: detection of possible risk factors, *Br J Dermatol*. 160 (2009) 835–843.
- [118] S. Svegliati Baroni, M. Santillo, F. Bevilacqua, M. Luchetti, T. Spadoni, M. Mancini, P. Fraticelli, P. Sambo, A. Funaro, A. Kazlauskas, E.V. Avvedimento, A. Gabrielli, Stimulatory Autoantibodies to the PDGF Receptor in Systemic Sclerosis, *New England Journal of Medicine*. 354 (2006) 2667–2676.
- [119] R. Tamarat, J.-S. Silvestre, M. Durie, B.I. Levy, Angiotensin II Angiogenic Effect In Vivo Involves Vascular Endothelial Growth Factor- and Inflammation-Related Pathways, *Laboratory Investigation*. 82 (2002) 747–756.
- [120] A.J. Tyndall, B. Bannert, M. Vonk, P. Airò, F. Cozzi, P.E. Carreira, D.F. Bancel, Y. Allanore, U. Müller-Ladner, O. Distler, F. Iannone, R. Pellerito, M. Pileckyte, I. Miniati, L. Ananieva, A.B. Gurman, N. Damjanov, A. Mueller, G. Valentini, G. Riemekasten, M. Tikly, L. Hummers, M.J.S. Henriques, P. Caramaschi, A. Scheja, B. Rozman, E. Ton, G. Kumánovics, B. Coleiro, E.

- Feierl, G. Szucs, C.A. Von Mühlen, V. Riccieri, S. Novak, C. Chizzolini, A. Kotulska, C. Denton, P.C. Coelho, I. Kötter, I. Simsek, P.G. de la Pena Lefebvre, E. Hachulla, J.R. Seibold, S. Rednic, J. Stork, J. Morovic-Vergles, U.A. Walker, Causes and risk factors for death in systemic sclerosis: a study from the EULAR Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) database, *Ann Rheum Dis.* 69 (2010) 1809–1815.
- [121] G. Valentini, M. Iudici, U.A. Walker, V.K. Jaeger, M. Baron, P. Carreira, L. Czirják, C.P. Denton, O. Distler, E. Hachulla, A.L. Herrick, O. Kowal-Bielecka, J. Pope, U. Müller-Ladner, G. Riemekasten, J. Avouac, M. Frerix, S. Jordan, T. Minier, E. Siegert, V.H. Ong, S. Vettori, Y. Allanore, The European Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR) task force for the development of revised activity criteria for systemic sclerosis: derivation and validation of a preliminarily revised EUSTAR activity index, *Annals of the Rheumatic Diseases.* 76 (2017) 270–276.
- [122] P. Vignesh, A. Rawat, M. Sharma, S. Singh, Complement in autoimmune diseases, *Clin Chim Acta.* 465 (2017) 123–130.
- [123] G. Viswanathan, A. Mamazhakypov, R.T. Schermuly, S. Rajagopal, The Role of G Protein-Coupled Receptors in the Right Ventricle in Pulmonary Hypertension, *Frontiers in Cardiovascular Medicine.* 5 (2018) 179.
- [124] G. Wallukat, I. Schimke, Agonistic autoantibodies directed against G-protein-coupled receptors and their relationship to cardiovascular diseases, *Semin Immunopathol.* 36 (2014) 351–363.
- [125] M. Weber, C. Hamm, Role of B-type natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP in clinical routine, *Heart.* 92 (2006) 843–849.
- [126] F. Weigold, J. Günther, M. Pfeiffenberger, O. Cabral-Marques, E. Siegert, D. Dragun, A. Philippe, A.-K. Regensburger, A. Recke, X. Yu, F. Petersen, R. Catar, R. Biesen, F. Hiepe, G.R. Burmester, H. Heidecke, G. Riemekasten, Antibodies against chemokine receptors CXCR3 and CXCR4 predict progressive deterioration of lung function in patients with systemic sclerosis, *Arthritis Research & Therapy.* 20 (2018) 52.
- [127] W. Wu, S. Jordan, N. Graf, J. de Oliveira Pena, J. Curram, Y. Allanore, M. Matucci-Cerinic, J.E. Pope, C.P. Denton, D. Khanna, O. Distler, Progressive skin fibrosis is associated with a decline in lung function and worse survival in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis in the European Scleroderma Trials and Research (EUSTAR) cohort, *Ann Rheum Dis.* 78 (2019) 648–656.
- [128] Y. Wu, C. Zhang, W. Xu, J. Zhang, Y. Zheng, Z. Lu, D. Liu, K. Jiang, CXC motif chemokine receptor 4 gene polymorphism and cancer risk, *Medicine (Baltimore).* 95 (2016) e5317.
- [129] S.-A. Yoo, M. Kim, M.-C. Kang, J.-S. Kong, K.-M. Kim, S. Lee, B.-K. Hong, G.H. Jeong, J. Lee, M.-G. Shin, Y.-G. Kim, I. Apicella, V. Cicatiello, S. De Falco, C.-H. Yoon, C.-S. Cho, Z.Y. Ryoo, S.-H. Lee, W.-U. Kim, Placental growth

factor regulates the generation of TH17 cells to link angiogenesis with autoimmunity, Nat Immunol. 20 (2019) 1348–1359.

[130] <https://www.celltrend.de> (Tag des Zugriffs: 10.2.2021)

[131] https://www.gelbe-liste.de/wirkstoffe/Rituximab_27272 (Tag des Zugriffs: 21.11.2021).

[132] <https://www.uksh.de/klinische-chemie/Analysenverzeichnis.html> (Tag des Zugriffs: 10.04.2021).

7 Anhänge

7.1 Ethikvotum



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23538 Lübeck

Herrn
Dr. med. Cabral-Marques
Klinik für Rheumatologie

im Hause

nachrichtlich:
Frau Prof. Dr. med. Riemekasten, Direktorin der Klinik für Rheumatologie

Ethik-Kommission

Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Universität zu Lübeck
Stellv. Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler
Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann
Tel.: +49 451 3101 1008
Fax: +49 451 3101 1024

ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 16-199
Datum: 14. November 2016

Sitzung der Ethik-Kommission am 04. August 2016

Antragsteller: Herr Dr. Cabral-Marques

Titel: Identifikation und Charakterisierung von neuen Biomarkern bei entzündlichen Systemerkrankungen

Sehr geehrter Herr Dr. Cabral-Marques,

vielen Dank für Ihr Schreiben vom 09. November 2016, in dem Sie unserem Wunsch nach weiteren Informationen zum Studienvorhaben nachkommen und die überarbeiteten Unterlagen vorlegen.

Die Kommission hat nunmehr keine Bedenken mehr.

Bei Änderung des Studiendesigns sollte der Antrag erneut vorgelegt werden.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten und unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten, ist die Kommission umgehend zu benachrichtigen.

Die Deklaration von Helsinki in der aktuellen Fassung fordert in § 35 dazu auf, jedes medizinische Forschungsvorhaben mit Menschen zu registrieren. Daher empfiehlt die Kommission grundsätzlich die Studienregistrierung in einem öffentlichen Register (z.B. unter www.drks.de). Die ärztliche und juristische Verantwortung des Studienleiters und der an der Studie teilnehmenden Ärzte bleibt entsprechend der Beratungsfunktion der Ethikkommission durch unsere Stellungnahme unberührt.

Mit freundlichem Gruß

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Katalinic'.

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

7.2 Sammlung und Aufbereitung von Seren

7.2.1 Sammlung von Seren - HC - Standard Operating Procedure

Zeitraum: ab dem 15.10.2018

Projektverantwortliche: Prof. G. Riemekasten; Dr. S. Schinke; cand. med.
K. Sterner; PD Dr. A. Müller; Medizinisch-technische
Laboratoriumsassistentinnen S. Pitann, G. Marschner

Kooperationspartner: Prof. Dr. S. Görg (Blutbank), K. Gattermann

Ethikvotum: Az 16-199, mindestens 80 oder mehr Blutspender (wenn möglich
mehr Frauen als Männer, Alter > 18 Jahre – max. Alter für Blutspender)

Protokoll:

Blutspendezeit: Mo/ Fr: 7:00-13:00 Uhr; Di: 13:00-19:00 Uhr; Do: 10:00-16:00 Uhr

- die Blutentnahme (mit Sarstedt Monovetten, weißer Verschluss, keine gerinnungshemmenden Zusätze) erfolgte immer durch das Personal des UKSH-Blutspendezentrums am Campus Lübeck
- die Abholung der Seren erfolgte jeweils nach telefonischer Rücksprache mit Frau Gattermann bzw. der „Blutspende“ durch S. Pitann, G. Marschner, A. Müller oder K. Sterner
- verantwortlich für die Serenaufbereitung, Lagerung und Dokumentation: S. Pitann, G. Marschner, A. Müller und K. Sterner nach Einweisung durch A. Müller

7.2.2 Sammlung von Seren - SSc - Standard Operating Procedure

- die Blutentnahme (mit Sarstedt Monovetten, weißer Verschluss, keine gerinnungshemmenden Zusätze) erfolgte immer durch das Personal der rheumatologischen Ambulanz des UKSH

7.2.3 Serumaufbereitung - Standard Operating Procedure

- nach der vollständigen Gerinnung (mind. 30min) wurde das Serumröhrchen (Sarstedt Monovette) bei Raumtemperatur 20min bei 2000g zentrifugiert
- der Überstand (das eigentliche Serum) wurde in Eppendorf Reaktionsgefäße aliquotiert (SSc: je 4 – 6 x 500 µl; HC: je 1 x 100 µl und 4 – 6 x je 500 µl) und zunächst bei -20°C, einige Tage später bei -80°C gelagert (langfristige Lagerung)
- der Versand der Seren zur Autoantikörperbestimmung mittels ELISA durch die Firma Celltrend in Luckenwalde erfolgte auf Trockeneis, dabei wurden folgende Eppendorf Reaktionsgefäße verschickt: HC: je 1 x 100 µl, SSc: je 1 x 500 µl

7.3 Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs

7.3.1 Demografische Daten und Komorbidität

Tabelle 7-1 Demografische Daten und Komorbiditäten der Patienten mit systemischer Sklerose

	<u>Gesamt</u> <u>(n =177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>
<u>Demografische Daten</u>			
Weiblich, no (%)	140 (79)	40 (68)	100 (85)
Alter [Jahre]	57,1 (24,5-84,2)	56,5 (24,5-80,1)	57,5 (25,1-84,2)
Gewicht [kg]	67 (45-145)	68 (50-145)	65 (45-138)
Größe [m]	1,7 (1,6-1,9)	1,7 (1,6-1,9)	1,7 (1,6-1,9)
BMI [kg/m ²]	23,2 (15,8- 51,4)	22,8 (18,2- 51,4)	23,6 (15,8- 41,2)
Adipositas (BMI ≥ 30), no (%)	22 (13)	7 (12)	15 (14)
Untergewicht (BMI < 20), no (%)	32 (18)	11 (19)	21 (18)
Gewichtsabnahme > 2,5kg/6Monate, no (%)	31 (18)	10 (17)	21 (18)
Raucher, no (%)	28 (16)	6 (1)	22 (19)
Pack years [Jahre]	0 (0-100)	0 (0-45)	0 (0-100)
<u>Komorbidität</u>			
Overlap-Syndrom, no (%)	43 (24)	17 (29)	26 (22)
Rheumatoide Arthritis, no (%)	25 (14)	12 (20)	13 (11)
Sekundäre Fibromyalgie, no (%)	8 (5)	1 (2)	7 (6)
(Poly-)Myositis, no (%)	7 (4)	2 (3)	4 (3)
Systemischer Lupus erythematodes, no (%)	4 (2)	0 (0)	4 (3)
Begleitende Autoimmunerkrankungen, no (%)	38 (21)	12 (20)	26 (22)
Autoimmunthyreoiditis, no (%)	18 (10)	9 (15)	9 (8)
Maligne Tumoren, no (%)	30 (17)	13 (22)	17 (14)
Kardiovaskuläre Komorbiditäten, no (%)	71 (40)	21 (36)	50 (42)
Angina pectoris, no (%)	3 (2)	0 (0)	3 (3)
Arterielle Hypertonie, no (%)	54 (31)	18 (31)	36 (31)
Arteriosklerose, no (%)	16 (9)	4 (7)	12 (10)
davon KHK, no (%)	8 (5)	1 (2)	7 (6)
Vorhofflimmern, no (%)	12 (7)	2 (3)	10 (8)
Dys-/ Hyperlipoproteinämie, no (%)	17 (10)	5 (8)	12 (10)
Neurologische Komorbiditäten, no (%)	19 (11)	8 (14)	11 (9)
Schwindel, no (%)	7 (4)	3 (5)	4 (3)
Restless legs, no (%)	3 (2)	1 (2)	2 (2)
Depression, no (%)	10 (6)	2 (3)	8 (7)
Osteopenie/Osteoporose, no (%)	29 (16)	8 (14)	21 (18)
Arthrose, no (%)	14 (8)	6 (10)	8 (7)
Vitamin D - Mangel, no (%)	25 (19)	7 (17)	8 (20)
Fatigue, no (%)	16 (9)	3 (5)	13 (11)

Metrische Variablen: Median (Minimum-Maximum); Nominale Variablen: Absolute Anzahl (Anzahl in Prozent)

7.3.2 Klassifikationskriterien und Scores

Tabelle 7-2: Klassifikationskriterien und Scores der Patienten mit systemischer Sklerose

	<u>Gesamt</u> <u>(n =177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>
<u>Klassifikationskriterien</u>			
ACR/EULAR- Kriterien erfüllt (≥ 9), no (%)	154 (87)	49 (83)	105 (89)
Hautverdickung der Finger, no (%)	144 (81)	48 (81)	96 (117)
Läsionen der Fingerspitze, no (%)	60 (33)	16 (28)	44 (38)
PAH oder ILD, no (%)	65 (37)	23 (39)	42 (36)
Teleangiektasien, no (%)	78 (44)	20 (34)	58 (49)
Pathologische Kapillarmikroskopie, no (%)	35 (61)	7 (24)	28 (70)
Raynaudsyndrom, no (%)	151 (85)	48 (81)	102 (87)
SSc-spezifische Antikörper, no (%)	131 (74)	46 (78)	85 (72)
EUSTAR-Aktivitätsindex	2,5 (0-6,3)	2,5 (0-6,3)	2,3 (0-6,3)
Aktive Erkrankung (EUSTAR $\geq 2,5$), no (%)	110 (62)	37 (62)	73 (61)
Modified Rodnan skin score	5 (0-30)	7 (0-30)	4 (0-23)

Metrische Variablen: Median (Minimum-Maximum); Nominale Variablen: absolute Anzahl (Anzahl in Prozent)

7.3.3 Organbeteiligung

Tabelle 7-3 Organfunktionsparameter der Patienten mit systemischer Sklerose (SSc).

	<u>Gesamt</u> <u>(n =177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>	<u>Vorliegende</u> <u>Daten (no)</u>
Herzbeteiligung, no (%)	33 (19)	18 (31)	15 (13)	177
Diastolische Dysfunktion, no (%)	29 (26)	7 (20)	22 (29)	95
LVEF [%]	55 (30 - 71)	56 (30 - 68)	55 (40 - 71)	77
RVEF (Tapse) [mm]	21 (7 - 55)	22,5 (12-32)	20 (7 -55)	88
sPAP [mmHg]	20 (10 - 85)	10 (10 - 55)	20 (10 - 85)	109
sPAP > 25 mmHg, no (%)	40 (36)	13 (33)	27 (36)	109
NT-proBNP [ng/l]	123 (14 - 9477)	115 (18 - 9477)	126,5 (14-5849)	158
NT-proBNP erhöht, no (%)	46 (29)	17 (31)	29 (27)	158
Troponin T [ng/l]	11,6 (0 - 957)	16,6 (0 - 957)	8 (3 - 67)	54
Troponin T erhöht, no (%)	24 (44)	14 (61)	8 (30)	54
PAH, no (%)	21 (11)	5 (8)	16 (14)	177
Lungenfibrose, no (%)	49 (28)	25 (42)	24 (2)	177
TLCO [%]	71 (27 - 174)	67 (27 - 174)	73 (27 - 119)	130
TLCO < 80 %, no (%)	55 (58)	30 (68)	45 (52)	130
KCO = DLCO/VA [%]	88 (6 - 360)	85 (48 - 145)	90,5 (6 - 360)	133
KCO < 80 %, no (%)	47 (35)	17 (36)	30 (64)	133
FVC ex. [%]	86 (35 -141)	83,5 (42 - 131)	88,5 (35 - 141)	117
FVC < 80 %, no (%)	46 (39)	18 (45)	28 (36)	117
FEV1 [%]	87 (38 - 131)	86,3 (38 - 124)	87,5 (39 - 146)	117
Vcin [%]	84 (32 - 146)	78 (32 - 146)	88 (34 - 137)	117
FEV1/ Vcin [%]	105 (59 - 220)	109 (59 - 218)	101 (71 - 220)	117
Fibrose im CT (honey combing), no	22	10	12	53
Milchglasmuster im CT (aktive Entzündung), no	14	7	7	53
Fibrose im Röntgen-Thorax, no	5	4	1	11
Alveolitis in BAL, no	12	8	4	14
O ₂ -Pflicht, no (%)	10 (6)	3 (5)	7 (6)	177
GI-Beteiligung, no (%)	69 (39)	18 (31)	51 (43)	177
Dysphagie, Reflux (Ösophagus), no (%)	75 (42)	23 (39)	108 (92)	177
Völlegefühl, Erbrechen (Magen/ Dünndarm), no (%)	12 (7)	2 (3)	10 (8)	177
Diarrhoe, Blähungen, Obstipation (Colon), no (%)	21 (12)	4 (7)	17 (14)	177

	<u>Gesamt</u> <u>(n =177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>	<u>Vorliegende</u> <u>Daten (no)</u>
Bewegungssystem, no (%)	106 (60)	40 (68)	66 (56)	177
Myalgien, no (%)	41 (23)	14 (24)	27 (23)	177
Arthralgien, no (%)	77 (44)	28 (47)	49 (42)	177
Muskelschwäche, no (%)	16 (9)	10 (17)	6 (5)	177
Morgensteifigkeit, no (%)	32 (18)	15 (25)	17 (14)	177
Synovitis/ Sehnenreiben, no (%)	6 (3)	2 (3)	4 (3)	177
Sehnenverkürzung, no (%)	3 (2)	3 (5)	0 (0)	177
Muskelatrophie, no (%)	8 (5)	4 (7)	4 (3)	177
Faustschlussdefizit, no (%)	44 (25)	23 (39)	21 (18)	177
(Gelenk-)Kontrakturen, no (%)	39 (22)	20 (34)	19 (16)	177
Akroosteolysen, no (%)	16 (9)	8 (14)	8 (7)	177
Renale Beteiligung				
Kreatinin [µmol/l]	72 (0 - 311)	74,4 (39,9- 153)	71,6 (0 - 311)	169
GFR [ml/min/1,73 ²]	85 (13 - 154)	88 (39,6 - 154)	83,5 (13 - 120)	169
Proteinurie U-Stix, no (%)	36 (24)	16 (31)	20 (20)	151
Renale Krise, no	1	1	0	177
Nervensystem				
Polyneuropathie, no (%)	16 (9)	4 (7)	12 (10)	177
Dysästhesien, no (%)	8 (5)	4 (7)	4 (3)	177
Fatigue, no (%)	16 (9)	3 (5)	13 (11)	177
Haut				
Nekrosen, no (%)	20 (11)	2 (3)	18 (15)	177
Gangrän, no (%)	1 (1)	0 (0)	1 (1)	177
Pigmentveränderung, no (%)	14 (8)	9 (15)	5 (4)	177
Skleroglosson, no (%)	23 (13)	5 (8)	18 (15)	177
Mikrostomie, no (%)	49 (28)	17 (29)	32 (27)	177
Calcinosis cutis, no (%)	34 (19)	9 (15)	25 (21)	177
Periphere Ödeme, no (%)	13 (7)	2 (3)	11 (9)	177
Sklerödem, no (%)	55 (31)	16 (27)	39 (33)	177
Sicca, no (%)	57 (32)	17 (29)	40 (34)	177
Steatosis hepatis in der Sonographie, no	5	1	4	38
Splenomegalie in der Sonographie, no	6	2	4	38
Kritische Perfusion, no (%)	110 (62)	32 (54)	78 (66)	177
Digitale Ulzerationen (aktiv), no (%)	36 (20)	7 (11)	29 (25)	177
Digitale Ulzerationen (jemals), no (%)	70 (40)	21 (35)	49 (42)	177

Metrische Variablen: Median (Minimum-Maximum); Nominale Variablen: absolute Anzahl (Anzahl in Prozent) CT, Röntgen-Thorax, bronchoalveoläre Lavage (BAL) und sonographische Befunde sowie renale Krise: Anzahl. Als Referenzbereiche für Laborwerte wurden die alters- und geschlechtsspezifischen Angaben aus dem Analysenverzeichnis des Institutes für Klinische Chemie des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein verwendet [132].

7.3.4 Serologische Befunde

Tabelle 7-4: Routinelabor und Autoimmundiagnostik der Patienten mit systemischer Sklerose

	Gesamt (n =177)	diffus (n = 59)	limitiert (n = 118)	vorliegende Daten, no
Routinelabor				
Leukozyten [x10 ⁹ /l]	6,7 (2,6 - 21,9)	6,9 (2,6 - 15,3)	6,7 (2,8 - 21,9)	167
Hb [g/dl]	12,9 (8,2 - 20)	12,8 (8,8 - 15,6)	13 (8,2 - 20)	168
BSG (1h) [mm/h]	14 (0 - 74)	16 (0 - 67)	14 (2 - 74)	96
CRP [mg/l]	1,8 (0,3 - 61,6)	2,7 (0,3 - 61,6)	1,6 (0,3 - 58,4)	168
CK [U/l]	84 (22 - 1429)	85,5 (22 - 1429)	83 (23 - 1264)	143
Vit D3 (25OH) [µg/l]	22,4 (5,5 - 70,7)	18,6 (10,2 - 70,7)	22,4 (5,5 - 36,2)	11
Autoimmundiagnostik				
Komplement C3c [g/l]	1,1 (0,7 - 1,6)	1,1 (0,7 - 1,6)	1,1 (0,7 - 1,6)	135
Komplement C4 [g/l]	0,2 (0 - 0,5)	0,2 (0 - 0,5)	0,2 (0,1 - 0,4)	135
Rheumafaktor [kIU/l]	10 (0 - 43,8)	10 (0 - 23,9)	10 (0 - 43,8)	30
AT1R- AK [U/ml]	6,7 (0 - 576)	11 (2 - 576)	6 (0 - 157)	120
ETAR-AK [U/ml]	8 (0 - 163)	11 (2 - 163)	7 (0 - 61)	118
CCP-AK [U/ml]	8 (7 - 351)	8 (8 - 351)	8 (7 - 26,4)	26
IL-2-Rezeptor [U/ml]	507,5 (193 - 1697)	583 (312 - 1697)	470 (193 - 891)	54
ANA positiv, no	151	53	98	166
ANA-Screen [Ratio]	6 (0,1-10,2)	7,1 (0,1-9,2)	5,7 (0,1-10,2)	166
Scl-70-Ak, no	46	33	13	166
CENP-B-Ak, no	76	8	68	166
U1-RNP/Sm Ak, no	8	3	5	166
Sm Ak, no	1	0	1	166
Ro/SS-A Ak, no	6	2	4	166
Ro 52 Ak, no	41	10	31	166
La/SS-B Ak, no	16	8	8	166
Jo-1 Ak, no	3	0	3	166
PCNA AK, no	5	2	3	166
Pm Scl-100 AK, no	13	4	9	166
ARPA, no	1	1	0	166
Pm Scl-75 Ak, no	7	2	5	166
Nukleosomen-Ak, no	7	1	6	166
AMA M2-Ak, no	10	1	9	166
Mi-2-Ak, no	6	2	4	166
Ku-Ak, no	6	1	5	166
CENP-A-Ak, no	2	2	0	166

Metrische Variablen: Median (Minimum-Maximum), Nominale Variablen: Absolute Anzahl

Als Referenzbereiche wurden die alters- und geschlechtsspezifischen Angaben aus dem Analysenverzeichnis des Institutes für Klinische Chemie des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein verwendet [132].

7.3.5 Medikation

Tabelle 7-5: Medikamentöse Therapie der Patienten mit systemischer Sklerose

	<u>Gesamt</u> <u>(n =177)</u>	<u>diffus</u> <u>(n = 59)</u>	<u>limitiert</u> <u>(n = 118)</u>
Medikamente, no (%)	168 (95)	54 (9)	114 (97)
Immunsuppression, no (%)	125 (71)	43 (73)	82 (70)
kombinierte Immunsuppression, no (%)	7 (4)	1 (2)	6 (5)
Vasoaktive Medikamente, no (%)	102 (58)	33 (56)	69 (59)
Glukokortikoide, no (%)	45 (25)	17 (29)	28 (24)
Cyclophosphamid, no (%)	17 (10)	11 (19)	6 (5)
Azathioprin, no (%)	9 (5)	0 (0)	9 (8)
(Hydroxy-) Chloroquin, no (%)	46 (26)	11 (19)	35 (30)
Methotrexat, no (%)	34 (19)	7 (11)	27 (23)
Rituximab, no (%)	15 (9)	10 (17)	5 (4)
Mycophenolatmofetil, no (%)	19 (11)	14 (28)	5 (4)
Ciclosporin A, no (%)	13 (7)	10 (17)	3 (3)
AT1R-Antagonisten, no (%)	17 (10)	4 (7)	13 (11)
Iloprost, no (%)	64 (36)	23 (39)	69 (59)
Endothelinrezeptor-Antagonisten, no (%)	43 (24)	10 (17)	33 (28)
Kalziumkanalblocker, no (%)	50 (28)	14 (24)	36 (30)
Phosphodiesterase-5-Inhibitoren, no (%)	25 (14)	5 (9)	20 (17)
ACE-Hemmer, no (%)	27 (15)	9 (15)	18 (15)
Betablocker, no (%)	29 (17)	6 (10)	23 (20)
Statine, no (%)	23 (13)	3 (5)	20 (17)
Diuretika, no (%)	29 (16)	13 (22)	16 (14)
Vitamin D, no (%)	88 (50)	27 (46)	61 (53)

Absolute Anzahl (Anzahl in Prozent)

7.4 Autoantikörper-Level in Zusammenschau mit der Klinik

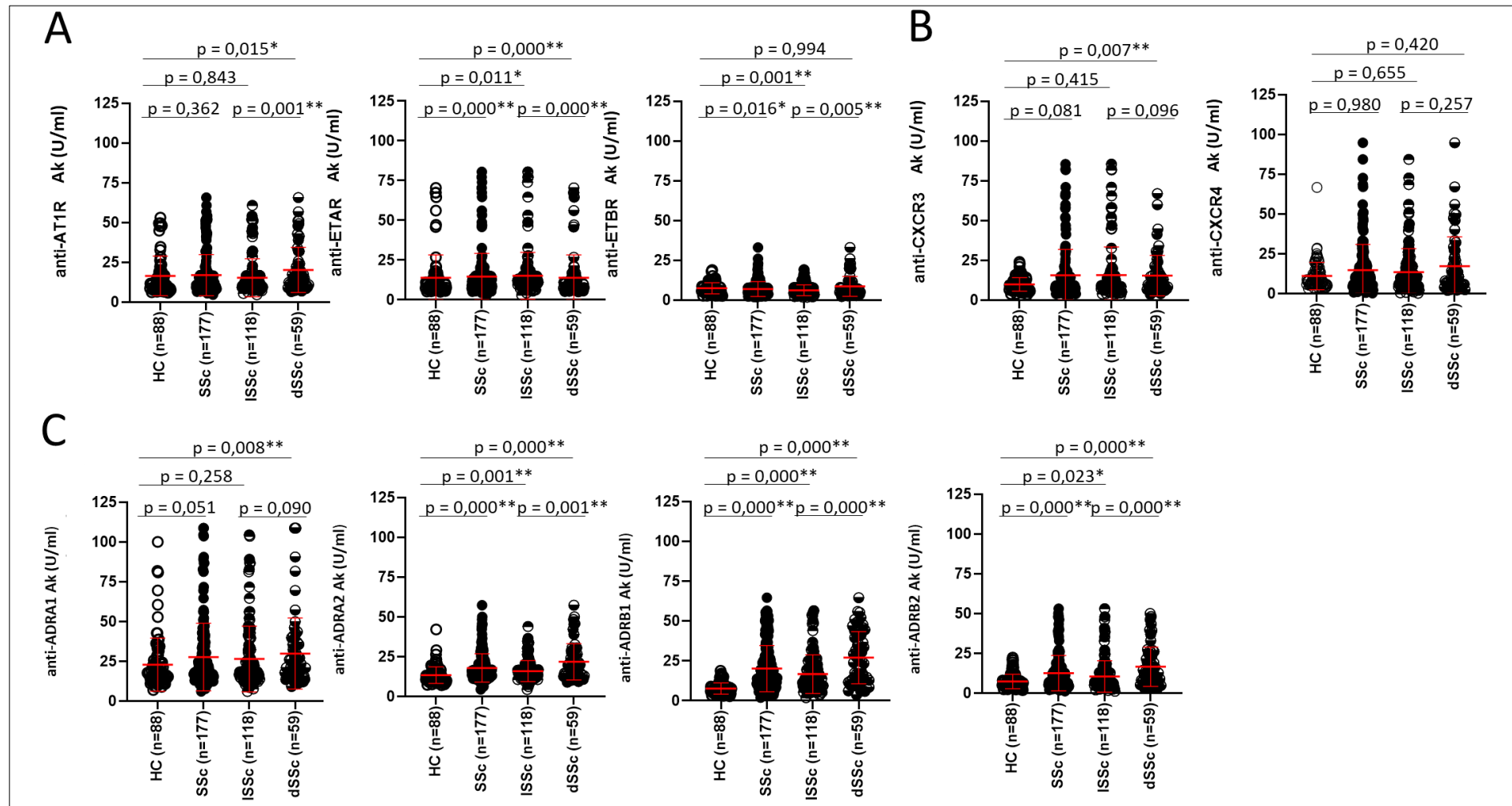


Abbildung 19: Autoantikörper (Ak)-Level für Gesundkontrollen (HC), systemische Sklerose (SSs) sowie die Verlaufsformen diffus-kutane SSs (dSSs) und limitiert-kutane SSs (ISSs) (1): Ak-Level für A) AT1R, ETAR, ETBR B) CXCR3, CXCR4 C) Adrenozeptoren unterscheiden sich zwischen HC und SSs sowie abhängig von der SSs-Verlaufsform. Der Median mit dem Interquartilsabstand ist in Rot dargestellt. X-Achse: Ak-Targets (U/ml) Y-Achse: Ak-Werte (U/ml) Statistik: explorative U-Tests ($0,01 \leq p < 0,05$: *, $p < 0,01$: **)

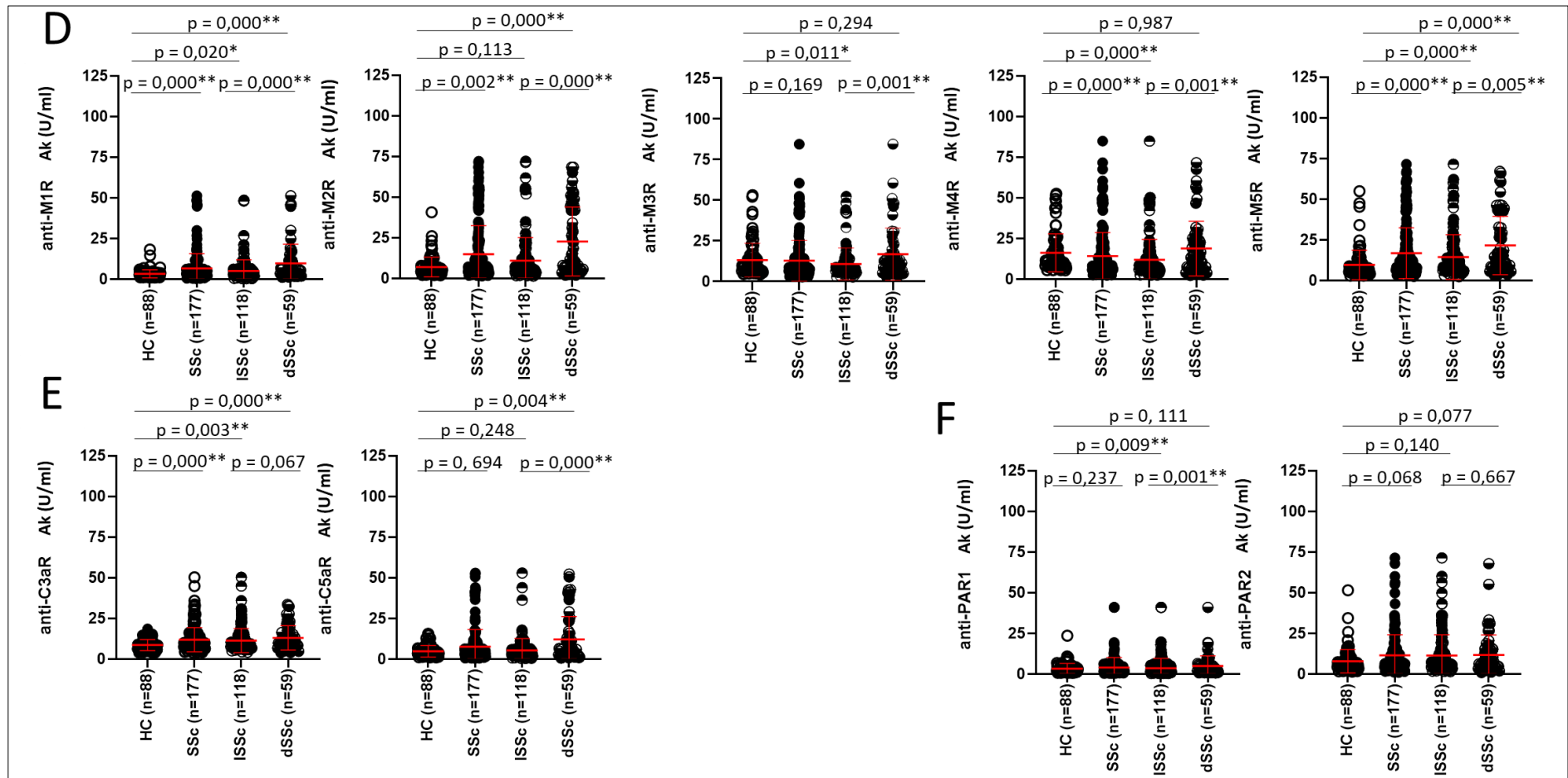


Abbildung 20: Autoantikörper (Ak)-Level für Gesundkontrollen (HC), systemische Sklerose (SSs) sowie die Verlaufsformen diffus-kutane SSs (dSSs) und limitiert-kutane SSs (ISSs) (2): Autoantikörper-Level für D) Muskarinrezeptoren, E) Komplementrezeptoren, F) Protease-aktivierte Rezeptoren unterscheiden sich zwischen HC und SSs sowie abhängig von der SSs-Verlaufsform. Der Median mit dem Interquartilsabstand ist in Rot dargestellt. X-Achse: Ak-Targets (U/ml) Y-Achse: Ak-Werte (U/ml) Statistik: explorative U-Tests ($0,01 \leq p < 0,05$: *, $p < 0,01$: **)

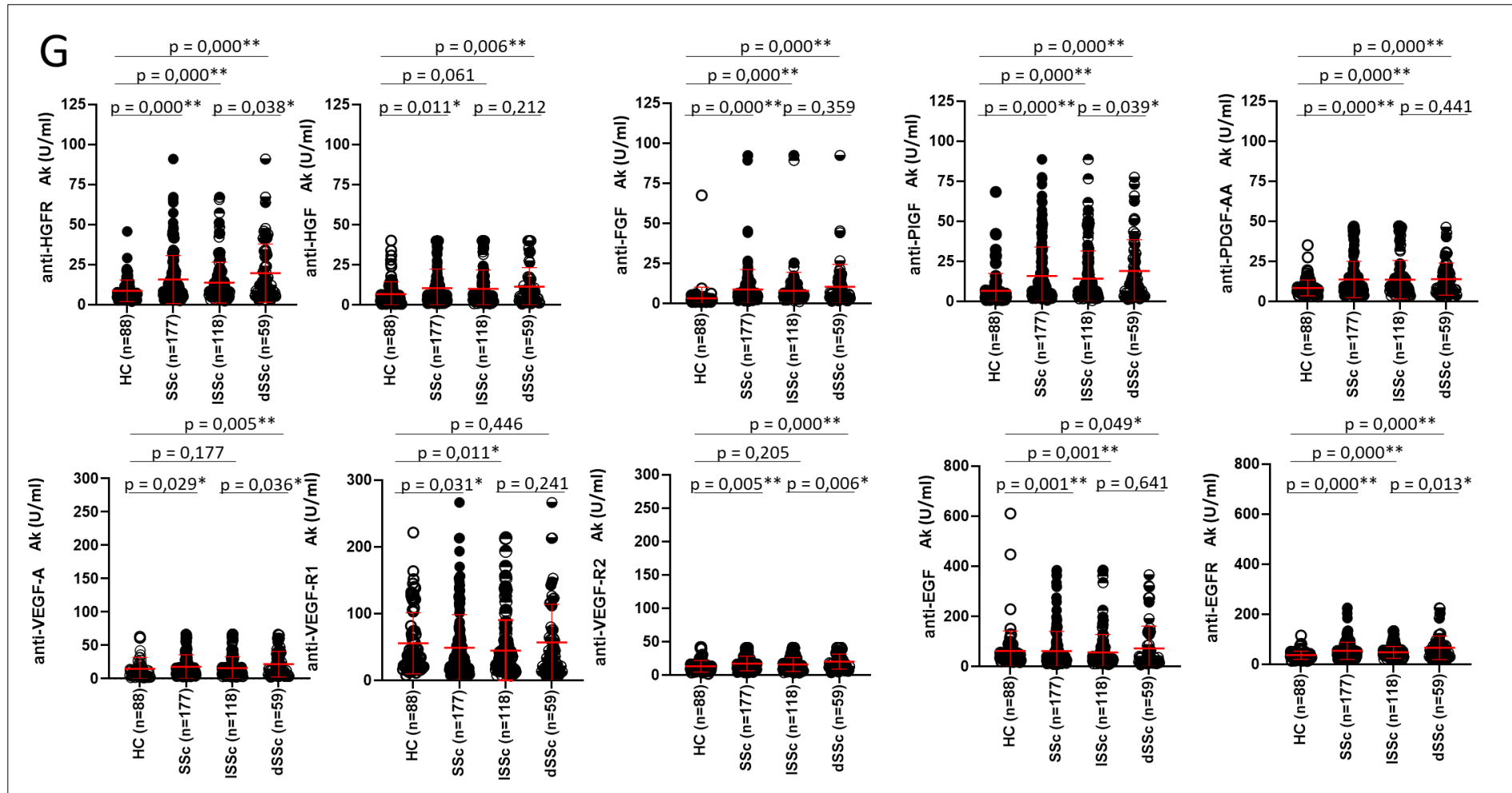


Abbildung 21: Autoantikörper(Ak)-Level für Gesundkontrollen (HC), systemische Sklerose (SSs) sowie die Verlaufsformen diffus-kutane SSs (dSSs) und limitiert-kutane SSs (ISSs) (3): Autoantikörper-Level für G) Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren unterscheiden sich zwischen HC und SSs sowie abhängig von der SSs-Verlaufsform. Der Median mit dem Interquartilsabstand ist in Rot dargestellt. X-Achse: Ak-Targets (U/ml) Y-Achse: Ak-Werte (U/ml) Statistik: explorative U-Tests ($0,01 \leq p < 0,05$: *, $p < 0,01$: **)

7.4.1 Prädiktiver Wert der Autoantikörper für die SSc

Tabelle 7-6: Teststatistik der Receiver-Operating-Characteristic im Vergleich der Autoantikörper-Level von Patienten mit systemischer Sklerose und Gesundkontrollen

Variablen für Testergebnis	Fläche	Std.-Fehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
VEGF-A-Ak	0,583	0,039	0,029	0,507	0,658
VEGF-R1-Ak	0,418	0,036	0,031	0,348	0,489
VEGF-R2-Ak	0,607	0,035	0,005	0,538	0,677
EGF-Ak	0,376	0,033	0,001	0,311	0,442
EGFR-Ak	0,687	0,033	0,000	0,622	0,752
FGF-Ak	0,905	0,021	0,000	0,863	0,947
HGF-Ak	0,595	0,036	0,011	0,524	0,667
HGFR-Ak	0,685	0,034	0,000	0,618	0,752
PIGF-Ak	0,754	0,032	0,000	0,690	0,818
PDGF-AA-Ak	0,654	0,034	0,000	0,588	0,720
AT1R-Ak	0,534	0,039	0,366	0,457	0,611
ETAR-Ak	0,651	0,037	0,000	0,578	0,724
ETBR-Ak	0,411	0,036	0,019	0,340	0,482
CXCR3-Ak	0,566	0,036	0,081	0,496	0,636
CXCR4-Ak	0,501	0,035	0,980	0,432	0,570
C3a-R-Ak	0,643	0,035	0,000	0,573	0,712
C5a-R-Ak	0,515	0,036	0,694	0,444	0,585
PAR1-Ak	0,455	0,036	0,237	0,385	0,526
PAR2-Ak	0,569	0,036	0,068	0,498	0,639
ADRA1-Ak	0,574	0,037	0,051	0,501	0,646
ADRA2-Ak	0,685	0,034	0,000	0,619	0,752
ADRB1-Ak	0,824	0,025	0,000	0,775	0,873
ADRB2-Ak	0,651	0,034	0,000	0,584	0,718
M1R-Ak	0,652	0,034	0,000	0,586	0,718
M2R-Ak	0,618	0,034	0,002	0,551	0,686
M3R-Ak	0,448	0,037	0,169	0,376	0,520
M4R-Ak	0,361	0,033	0,000	0,296	0,426
M5R-Ak	0,700	0,034	0,000	0,634	0,767
Bei den Variablen für die Testergebnisse: HGF-Ab, PAR1-Ab, M3R-Ab, M4R-Ab liegt mindestens eine Bindung zwischen der positiven Ist-Zustandsgruppe und der negativen Ist-Zustandsgruppe vor. Die Statistiken sind möglicherweise verzerrt.					
a. Unter der nichtparametrischen Annahme					
b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0,5					

7.4.2 p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests für Autoantikörper und Klinik

Tabelle 7-7: Asymptotische Signifikanz p nach Mann-Whitney-U-Test für ausgewählte klinische Manifestationen und für die Medikation

Da nicht für multiples Testen korrigiert wurde, ist anzunehmen, dass die einzelnen p -Werte Tendenzen aufzeigen, aber ihr Wert nicht überschätzt werden sollte.

Assoziationen mit $p < 0,05$ wurden folgenderweise markiert: + und rote Einfärbung $\triangleq$ mittlerer Rang ist bei Vorliegen der Manifestation höher,

- und blaue Einfärbung $\triangleq$ mittlerer Rang ist bei Vorliegen der Manifestation niedriger

Autoantikörper- target	CaSR	AT1R	ETAR	ETBR	PAR1	PAR2	ADR A1	ADR A2	ADR B1	ADR B2	M1R	M2R	M3R	M4R	M5R	CXC R3	CXC R4	C3aR	C5aR	VEGF- A	VEGF- R1	VEGF- R2	EGF	EGFR	FGF	HGF	HGFR	PIGF	PDGF- AA	PDGF- BB	sEng
SSc (vs HC)	/	0,366	+0,000	-0,019	0,237	0,068	0,051	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	+0,002	0,169	-0,000	+0,000	0,081	0,980	+0,000	0,694	+0,029	-0,031	+0,005	-0,001	+0,000	+0,000	+0,011	+0,000	+0,000	+0,000	/	/
dSSc (vs HC)	/	+0,015	+0,000	0,994	0,111	0,077	+0,008	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	0,294	0,987	+0,000	+0,007	0,420	+0,000	+0,004	+0,005	0,446	+0,000	-0,049	+0,000	+0,000	+0,006	+0,000	+0,000	+0,000	/	/
ISSc (vs. HC)	/	0,843	+0,011	-0,001	-0,009	0,140	0,258	+0,001	+0,000	+0,023	+0,020	0,133	-0,011	-0,000	+0,000	0,415	0,655	+0,003	0,248	0,177	-0,011	0,205	-0,001	+0,000	+0,000	0,061	+0,000	+0,000	+0,000	/	/
dSSc (vs. ISSc)	0,628	+0,001	+0,000	+0,005	+0,001	0,677	0,090	+0,001	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	+0,001	+0,001	+0,005	0,096	0,257	0,067	+0,000	+0,036	0,241	+0,006	0,641	+0,013	0,359	0,212	+0,038	+0,039	0,441	0,694	0,050
Demografie																															
SSc, ♂	0,215	0,056	0,050	0,217	0,340	0,051	+0,041	0,054	+0,000	+0,040	+0,031	+0,028	0,151	0,066	+0,040	+0,048	+0,029	0,081	+0,002	0,215	0,140	0,305	0,227	0,232	0,140	0,206	+0,033	0,119	0,672	0,184	0,424
Adipositas	0,504	0,855	0,495	0,786	0,843	0,730	0,431	0,578	0,889	0,783	0,667	0,624	0,881	0,593	0,419	0,901	0,237	0,254	0,733	0,510	0,108	0,402	0,234	0,446	0,769	0,877	0,896	0,121	0,833	0,108	0,157
Untergewicht	0,703	0,697	0,516	0,233	0,923	0,088	0,483	0,372	0,281	0,423	0,723	0,579	0,119	0,355	0,154	0,669	0,395	0,329	0,452	0,272	0,083	0,723	0,988	0,300	0,618	0,858	0,207	0,061	0,897	0,682	0,795
Gewichtabnahme	0,820	0,602	0,596	0,354	0,350	0,666	0,690	0,725	0,461	0,682	0,108	0,879	0,808	0,885	0,871	0,668	0,997	0,613	0,991	0,766	0,517	0,835	0,772	0,638	0,702	0,337	0,671	0,230	0,966	0,467	0,328
Raucher	0,393	0,745	0,788	0,252	0,874	0,700	0,539	0,296	0,682	0,775	0,610	0,405	0,838	0,899	0,700	0,438	0,601	0,593	0,644	0,984	0,641	0,325	0,946	0,343	0,069	0,224	0,574	0,933	0,367	0,189	0,720
Komorbidität																															
Overlap-Syndrom	0,069	+0,024	0,053	0,365	0,067	0,458	+0,011	0,302	0,328	0,103	0,081	0,081	0,184	0,227	0,211	0,704	0,464	0,263	0,195	+0,033	0,269	0,062	0,992	0,107	0,784	0,092	+0,044	0,543	+0,010	0,394	0,233
Rheumatoide Arthritis	0,238	0,242	0,220	0,616	0,265	0,530	0,206	0,167	0,352	+0,047	+0,038	0,140	0,335	0,304	0,459	0,337	0,441	0,388	0,145	0,131	0,511	0,074	0,973	0,162	0,736	0,315	0,292	0,702	0,081	0,590	0,403
Fibromyalgie	0,587	0,355	0,429	0,601	0,301	0,558	0,257	0,865	0,854	0,662	0,910	0,989	0,601	0,816	0,441	0,729	0,877	0,916	0,877	0,433	0,337	0,944	0,333	0,498	0,446	+0,031	0,417	0,838	0,078	0,247	0,296
(Poly-)Myositis	0,155	0,465	0,922	0,952	0,401	+0,018	0,299	0,625	0,892	0,851	0,673	0,696	0,752	0,588	0,994	0,934	0,810	0,532	0,845	0,572	0,355	0,940	0,684	0,916	0,735	0,970	0,253	0,988	0,916	+0,020	+0,044
System. Lupus erythematoses	0,269	+0,047	+0,043	0,108	0,154	0,071	+0,031	0,436	0,436	0,515	0,278	0,183	0,293	0,198	+0,050	0,282	0,101	0,183	0,221	0,053	+0,012	0,348	+0,016	0,086	0,152	0,122	0,065	0,152	+0,035	0,601	0,914
Autoimmun- erkrankung	0,720	0,789	0,305	0,525	0,997	0,447	0,633	0,497	0,270	0,391	0,803	0,937	0,836	0,717	0,640	0,915	0,568	0,464	0,523	0,599	0,815	0,741	0,424	0,957	0,937	0,949	0,265	0,376	0,664	0,107	0,405
Autoimmun- thyreoiditis	0,725	0,820	0,610	0,850	0,707	0,823	0,898	0,969	0,470	0,805	0,449	0,652	0,894	0,689	0,771	0,600	0,641	0,903	0,676	0,534	0,942	0,435	0,162	0,634	0,415	0,197	0,061	0,621	0,762	0,634	0,528
Maligne Tumoren	0,121	0,756	0,745	0,560	0,537	0,152	0,439	0,844	0,617	0,717	0,965	0,729	0,710	0,424	0,915	0,430	0,856	0,516	0,720	0,866	0,547	0,305	0,674	0,499	0,161	0,441	0,460	0,965	0,995	0,251	0,265
Kardiovaskuläre Komorbidität	0,529	0,596	0,595	0,279	0,676	0,818	0,230	0,323	0,512	0,331	0,788	0,350	0,143	0,524	0,526	0,522	0,993	0,979	0,590	0,416	0,810	0,839	0,559	0,943	0,979	0,195	0,557	0,686	0,613	0,211	0,068
Angina pectoris	0,343	0,420	0,145	0,762	0,583	0,255	0,054	0,255	0,358	0,762	0,060	0,296	0,868	0,715	0,868	0,420	0,859	0,643	0,130	0,895	0,493	0,367	0,358	0,895	0,627	0,753	0,968	0,496	0,296	0,891	0,346
Arterielle Hypertonie	0,896	0,841	0,983	0,707	0,799	0,772	0,738	0,858	0,826	0,626	0,279	0,900	0,994	0,930	0,987	0,337	0,760	0,787	0,769	0,612	0,977	0,695	0,901	0,481	0,918	0,379	0,227	0,816	0,788	0,076	-0,040
Artherosklerose	0,193	0,258	0,148	0,066	-0,025	-0,026	0,163	-0,042	0,076	0,156	0,328	0,098	-0,048	0,065	0,081	-0,026	-0,027	0,058	0,071	-0,034	-0,016	0,619	0,301	-0,023	0,086	0,544	0,054	-0,036	-0,035	-0,035	-0,002
KHK	0,343	0,972	0,915	0,398	-0,030	0,166	0,560	0,259	0,513	0,478	0,949	0,464	0,081	0,129	0,262	0,553	0,153	0,456	0,398	0,211	0,052	0,087	0,904	0,073	0,168	0,231	0,107	-0,022	0,418	0,891	0,346
VHF	0,802	0,517	0,450	0,172	0,630	0,324	0,879	0,193	0,253	0,181	0,770	0,363	-0,040	0,314	0,123	0,429	0,843	0,495	0,692	0,893	0,369	0,300	0,381	0,739	0,421	0,243	0,953	0,587	0,457	0,432	0,314
Dys-/ Hyperlipo- proteinämie	0,070	0,793	0,580	0,573	0,290	0,513	0,789	0,914	0,427	0,379	0,120	0,730	0,334	0,946	0,789	0,875	0,540	0,353	0,201	0,672	0,824	0,988	0,754	0,743	0,869	0,174	0,750	0,330	0,711	0,670	0,357
Neurologische Komorbidität	0,419	0,943	0,636	0,286	0,692	0,773	0,805	0,272	0,737	0,762	0,583	0,570	0,936	0,992	0,429	0,646	0,078	0,780	0,909	0,632	0,928	0,647	0,501	0,659	0,093	0,851	0,507	0,726	0,604	0,091	0,947
Schwindel	0,445	0,489	0,839	0,292	0,886	0,306	0,246	0,712	0,792	0,839	0,662	0,212	0,202	0,590	0,175	0,904	-0,008	0,399	0,746	0,547	0,641	0,724	0,374	0,804	0,379	0,638	0,598	0,234	0,127	0,189	0,166
Restless legs	0,658	0,691	0,215	0,955	0,589	0,733	0,955	0,847	0,847	0,901	0,413	0,691	0,905	0,720	0,691	0,251	0,609	0,725	0,759	0,363	0,555	0,589	0,191	0,874	0,691	0,768	0,128	0,488	0,051	-0,032	0,923
Depression	0,131	0,057	0,105	0,438	0,135	0,063	0,269	0,732	0,919	0,780	0,939	0,325	0,939	0,286	0,096	0,100	+0,030	0,155	0,970	+0,018	0,085	0,538	0,100	0,164	0,066	0,194	0,206	0,199	+0,003	0,481	+0,042
Osteopenie	0,293	0,991	0,531	0,791	0,739	0,576	0,500	0,686	0,949	0,858	0,547	0,949	0,923	0,757	0,899	0,567	0,388	0,745	0,959	0,483	0,783	0,069	0,290	0,818	0,209	0,284	0,283	0,968	0,937	0,405	0,292
Arthrose	0,998	0,948	0,952	0,896	0,866	0,275	0,458	0,315	0,974	0,370	0,684	0,773	0,765	0,870	0,724	0,815	0,858	0,803	0,712	0,258	0,239	0,765	0,640	0,625	0,507	0,771	+0,040	0,905	0,775	0,541	0,442
Fatigue	0,884	0,283	0,927	0,878	0,810	0,239	0,822	0,775	0,830	0,943	0,206	0,790	0,880	0,888	0,602	0,771	0,613	0,834	0,682	0,210	0,325	0,862	0,265	0,818	0,947	0,654	0,577	0,767	0,838	0,295	0,297

Autoantikörper- target	CaSR	AT1R	ETAR	ETBR	PAR1	PAR2	ADR A1	ADR A2	ADR B1	ADR B2	M1R	M2R	M3R	M4R	M5R	CXC R3	CXC R4	C3aR	C5aR	VEGF- A	VEGF- R1	VEGF- R2	EGF	EGFR	FGF	HGF	HGFR	PIGF	PDGF- AA	PDGF- BB	sEng	
Klinische SSc-Befunde																																
EUSTAR ≥ 2,5	0,226	0,776	0,610	0,276	0,157	0,095	0,385	0,538	0,110	0,579	+0,031	0,381	0,815	-0,048	0,337	0,110	0,216	+0,043	0,098	0,557	0,176	+0,043	+0,003	0,055	0,398	0,941	0,182	0,073	+0,048	0,742	0,698	
Sicca	0,706	0,549	0,631	0,506	0,560	0,620	0,979	0,942	0,656	0,329	0,681	0,945	0,369	0,865	0,856	0,513	0,768	0,997	0,651	0,604	0,621	0,942	0,730	0,965	0,498	0,173	0,602	0,391	0,965	0,655	0,521	
Raynaud	0,566	0,094	0,361	0,312	0,062	0,565	0,944	0,343	0,218	0,141	0,147	0,108	0,310	0,070	0,178	0,316	-0,016	-0,049	0,391	0,100	0,497	0,877	0,403	0,063	0,282	0,429	0,097	0,649	0,754	0,147	0,934	
aktuell akrale Ulzera	0,352	0,965	0,544	0,140	0,344	0,410	0,699	0,587	0,847	0,919	0,277	0,707	0,476	0,675	0,694	0,426	0,410	0,380	0,180	0,925	0,662	0,453	0,060	0,238	0,792	0,400	0,366	0,600	0,391	0,297	0,694	
Z.n. akralen Ulzera	0,941	0,914	0,175	0,962	0,329	0,608	0,525	0,719	0,902	0,685	0,621	0,399	0,445	0,818	0,888	0,969	0,094	0,808	0,788	0,565	0,965	0,366	0,712	0,069	0,542	0,053	0,306	0,712	0,771	0,293	0,135	
pitting scars	0,938	0,221	0,226	0,968	0,664	0,059	0,399	0,906	0,968	0,787	0,592	0,836	0,317	0,079	0,431	+0,001	0,826	0,269	0,811	0,095	0,604	0,105	0,799	0,293	0,531	+0,002	0,309	0,144	0,295	0,888	0,602	
Nekrosen	-0,049	0,882	0,915	0,694	0,934	0,407	0,683	0,134	0,795	0,508	0,842	0,677	0,227	0,716	0,967	0,597	0,306	0,908	0,919	0,721	0,704	0,982	0,959	0,187	0,411	0,474	0,119	0,475	0,858	0,419	0,461	
Pigment- veränderung	0,235	0,421	0,073	0,836	0,526	0,913	0,952	0,525	0,939	0,828	0,632	0,500	0,592	0,563	0,565	0,412	0,579	0,613	0,528	0,223	0,700	0,141	0,532	0,171	0,909	0,748	0,550	0,598	0,119	0,260	0,355	
Skleroglosson	0,096	0,675	0,827	0,499	0,981	0,229	0,154	0,289	0,183	0,422	0,760	0,794	0,168	0,637	0,659	0,289	0,899	0,568	0,176	0,944	0,452	0,286	0,631	0,777	0,839	0,315	0,124	0,753	0,184	0,735	0,873	
Teleangiektasien	0,669	0,471	0,126	0,555	0,402	0,859	0,052	0,482	0,069	0,195	0,484	0,292	0,741	0,830	0,400	0,396	0,822	0,829	0,102	0,986	0,532	0,408	0,581	0,795	0,208	0,730	0,258	0,887	+0,009	0,871	0,189	
Sklerodödem	0,879	0,671	0,606	0,528	0,518	0,872	0,119	0,899	0,558	0,720	0,412	0,287	0,783	0,543	0,169	0,256	0,196	0,530	0,687	0,797	0,797	0,390	0,445	0,541	0,252	0,702	0,570	0,592	0,491	0,744	0,271	
Mikrostomie	0,251	0,523	0,127	0,549	0,524	0,192	0,083	0,171	0,052	0,329	0,144	0,674	0,542	0,710	0,451	0,177	0,445	0,595	0,178	0,568	0,718	0,399	0,215	0,424	0,167	0,906	0,172	0,870	0,079	0,519	0,650	
Calcanosis cutis	0,243	0,232	0,817	0,176	0,096	0,512	0,071	0,456	0,392	0,510	0,574	0,119	0,501	0,545	0,479	0,288	0,426	0,229	0,575	0,275	0,438	0,204	0,613	-0,029	0,932	0,191	0,245	0,749	0,316	0,222	0,832	
periphere Ödeme	0,766	-0,033	0,278	0,160	0,487	0,235	0,311	0,371	0,227	0,362	0,377	0,273	0,169	0,342	0,080	0,613	0,818	0,339	0,383	0,408	0,555	0,609	0,844	0,969	0,472	0,945	0,241	0,947	0,885	0,943	0,642	
mRSS > 14	0,573	0,804	0,873	0,751	0,342	0,819	0,740	0,107	0,088	0,269	0,088	0,338	0,474	0,486	0,534	0,085	0,631	0,404	0,139	0,994	0,877	0,859	0,157	0,282	0,152	0,690	0,176	0,252	0,895	0,648	0,845	
Kritisch akrale Minderperfusion	0,818	0,500	0,094	0,394	0,098	0,582	0,928	0,880	0,644	0,323	0,435	0,885	0,907	0,334	0,312	0,137	0,767	0,348	0,214	0,225	0,603	0,115	0,332	0,966	0,879	+0,002	0,899	0,310	0,107	0,909	0,880	
Organbeteiligung																																
Lungenfibrose	0,988	+0,046	+0,017	+0,020	0,117	0,564	+0,017	+0,003	+0,000	+0,001	+0,001	+0,007	+0,039	0,114	+0,043	0,053	0,276	0,082	+0,000	0,995	0,405	+0,020	0,216	0,068	0,712	0,360	+0,024	0,226	0,136	0,808	0,418	
KCO < 80 %	0,212	0,461	0,602	0,770	0,185	0,460	0,538	0,136	0,126	0,682	0,980	0,257	0,572	0,369	0,320	0,073	0,288	0,126	0,302	0,369	0,296	0,563	0,445	0,074	0,089	0,494	0,162	0,097	0,881	0,051	0,137	
TLCO < 80 %	0,407	+0,028	+0,02	+0,025	0,269	0,427	+0,038	+0,027	+0,003	+0,005	+0,001	0,053	0,309	+0,024	+0,035	0,436	0,095	+0,040	+0,004	0,172	0,208	0,073	+0,000	0,264	0,284	0,67	+0,017	0,121	+0,009	0,663	0,726	
restriktiver Defekt	0,431	0,738	0,776	0,581	0,498	0,969	0,393	0,312	0,406	0,269	0,235	0,583	0,523	0,765	0,973	0,326	0,924	0,920	0,357	0,876	0,931	0,581	0,406	0,810	0,406	0,860	0,441	0,428	0,534	0,998	0,088	
obstruktiver Defekt	0,594	0,303	0,199	0,802	0,293	0,688	0,619	0,790	0,959	0,527	0,765	1,000	0,676	0,836	0,821	0,512	0,619	0,670	0,959	0,267	0,203	0,445	0,193	0,741	0,790	0,744	0,772	0,706	0,688	0,180	0,625	
CT: Fibrose	0,843	0,066	0,448	0,263	0,197	0,843	0,068	0,104	0,367	0,068	0,295	0,121	0,185	0,470	0,154	0,353	0,626	0,787	0,129	0,470	0,971	0,197	0,357	0,121	0,601	0,339	+0,049	0,220	0,330	0,759	0,481	
CT:Milchglas	0,864	0,353	0,218	0,559	0,912	0,493	0,267	0,285	0,323	0,506	0,333	0,234	0,486	0,770	0,420	0,068	0,176	0,872	0,304	0,545	0,824	0,968	0,323	0,687	0,572	0,338	0,375	0,532	0,519	0,912	0,167	
O ₂ Pflicht	0,574	0,120	0,162	0,272	0,055	0,431	0,272	0,297	0,197	0,344	0,884	0,616	0,268	0,391	0,416	0,846	0,765	0,775	0,427	0,202	0,611	0,909	0,420	0,589	0,854	0,839	0,780	0,625	0,493	0,544	0,446	
Herzbeteiligung	0,529	+0,008	+0,002	+0,021	0,098	0,322	+0,033	+0,021	+0,002	+0,009	+0,000	+0,004	0,059	+0,015	+0,034	0,526	0,484	+0,044	+0,001	+0,041	0,242	0,211	+0,041	0,174	0,224	0,255	0,104	0,166	0,249	0,753	0,161	
NT-proBNP Erhöhung	+0,022	0,589	0,458	0,902	0,355	0,315	0,480	0,105	+0,010	0,551	0,107	0,317	0,683	0,217	0,752	0,399	0,598	0,250	0,073	0,407	0,576	0,729	0,296	0,412	0,228	0,961	0,302	0,658	0,137	0,830	0,958	
PAH	0,335	0,066	0,315	-0,012	-0,007	0,169	0,435	0,077	0,514	0,181	0,744	0,098	-0,004	-0,040	-0,017	0,205	0,082	0,474	0,412	-0,034	0,082	-0,020	0,490	0,104	0,383	0,110	0,112	0,086	0,657	0,404	0,092	
sPAP > 40 mmHg	0,939	-0,006	-0,032	-0,030	-0,007	0,226	-0,030	0,100	0,198	0,195	0,473	0,151	-0,024	0,127	-0,020	0,161	0,284	0,268	0,129	-0,004	0,092	0,177	0,911	0,531	0,573	0,390	0,313	0,427	0,818	0,554	0,388	
diastolische Dysfunktion	0,489	0,923	0,192	0,867	0,363	0,659	0,825	0,951	0,646	0,909	0,315	0,480	0,600	0,590	0,902	0,464	0,150	0,812	0,640	0,744	0,609	0,600	0,525	0,448	0,475	0,972	0,798	0,150	0,656	0,187	0,359	
LVEF < 55 %	0,477	0,938	0,663	0,092	0,876	0,595	0,914	-0,019	-0,049	0,163	0,390	0,114	0,054	-0,010	0,299	0,392	0,282	0,621	0,144	0,477	0,829	0,272	0,769	0,464	0,595	0,110	0,867	0,167	0,384	0,424	0,473	
TAPSE < 18mm	0,966	0,204	0,338	0,086	0,488	0,086	0,535	-0,049	0,344	0,164	0,796	0,559	-0,007	0,243	0,122	0,099	0,134	0,704	0,332	0,200	0,512	0,383	0,909	0,652	0,768	0,842	0,066	0,444	-0,026	0,957	0,687	
Troponin T Erhöhung	0,361																															

Antikörpertarget	CaSR	AT1R	ETAR	ETBR	PAR1	PAR2	ADR A1	ADR A2	ADR B1	ADR B2	M1R	M2R	M3R	M4R	M5R	CXC R3	CXC R4	C3aR	C5aR	VEGF-A	VEGF-R1	VEGF-R2	EGF	EGFR	FGF	HGF	HGFR	PIGF	PDGF-AA	PDGF-BB	sEng	
Bewegungssystem	0,250	0,976	0,838	0,675	0,781	0,253	0,562	0,776	0,724	0,695	0,731	0,551	0,931	0,494	0,619	0,205	0,337	0,322	0,856	0,524	0,262	0,555	0,180	0,688	0,223	0,805	0,570	0,169	0,237	0,876	0,965	
Myalgien	0,878	0,612	0,878	0,859	0,593	0,639	0,707	0,989	0,666	0,997	0,334	0,552	0,898	0,737	0,432	0,641	0,507	0,186	0,143	0,666	0,371	0,910	-0,025	0,426	0,975	0,202	0,781	0,728	0,163	0,416	0,482	
Arthralgien	0,952	0,156	0,085	0,173	0,398	0,267	0,091	0,546	0,275	0,412	0,875	0,479	0,081	0,344	0,529	0,299	0,312	0,843	0,709	0,251	0,683	0,096	0,161	+0,019	0,906	0,430	0,078	0,278	0,109	0,962	0,642	
Muskelschwäche	0,254	0,419	0,720	0,556	0,291	+0,048	0,939	0,177	0,446	+0,037	0,292	0,287	0,479	0,214	0,182	0,379	0,437	0,490	0,802	0,080	0,373	0,925	0,357	0,153	0,471	+0,049	0,483	0,256	0,490	0,412	0,071	
Morgensteifigkeit	-0,011	0,661	0,374	0,867	0,867	0,810	0,470	0,631	0,661	0,882	0,967	0,868	0,740	0,973	0,933	0,755	0,435	0,852	0,588	0,787	0,669	0,895	0,772	0,870	0,596	0,977	0,703	0,849	0,560	0,755	0,977	
Synovitis	0,994	0,976	0,838	0,675	0,781	0,253	0,562	0,776	0,724	0,695	0,731	0,551	0,931	0,494	0,619	0,205	0,337	0,322	0,856	0,524	0,262	0,555	0,180	0,688	0,223	0,805	0,570	0,169	0,237	0,786	0,461	
Sehnenverkürzung	-0,046	0,615	0,335	0,858	0,590	0,721	0,764	0,994	0,565	0,948	0,227	0,795	0,670	0,839	0,961	0,878	0,871	0,923	0,715	0,968	0,839	0,814	0,734	0,355	0,795	0,811	0,795	0,703	0,839	0,306	0,430	
Akroosteolysen	0,082	0,163	+0,028	0,102	0,195	0,278	0,304	+0,001	+0,019	+0,001	+0,027	+0,013	0,190	0,120	+0,016	0,602	0,283	0,297	+0,012	0,235	0,755	0,095	0,329	0,220	0,192	0,143	0,201	0,393	0,051	+0,015	+0,025	
Muskelatrophie	0,938	0,145	0,170	0,701	0,776	0,820	0,233	0,765	0,798	0,580	0,560	0,776	0,879	0,629	0,660	0,955	0,765	0,599	0,527	0,629	0,842	0,983	0,250	0,153	0,083	0,563	0,422	0,482	0,655	0,612	0,388	
Faustschlussdefizit	0,725	0,930	0,868	0,847	0,394	0,288	0,278	0,487	0,378	0,411	0,502	0,676	0,649	0,523	0,924	0,627	0,839	0,970	0,949	0,786	0,843	0,781	0,876	0,709	0,734	0,384	0,897	0,954	0,354	0,437	0,350	
Kontrakturen	0,672	0,992	0,755	0,758	0,233	0,666	0,239	0,078	0,124	0,223	0,679	0,719	0,782	0,638	0,513	0,486	0,432	0,298	0,225	0,913	0,273	0,053	0,098	0,466	0,249	0,704	0,428	0,221	+0,012	0,056	0,128	
Proteinurie U-Stix	0,758	0,753	0,854	0,341	0,664	0,527	0,930	0,861	0,707	0,937	0,235	0,836	0,808	0,394	0,951	0,187	0,727	0,119	0,923	0,831	0,192	0,609	0,603	0,861	0,366	0,453	0,561	0,429	0,170	0,354	0,441	
Polyneuropathie	0,815	0,271	0,853	0,618	0,170	0,554	0,636	0,456	0,284	0,809	0,132	0,793	0,730	0,709	0,873	0,640	0,906	0,813	0,669	0,077	0,239	0,775	0,643	0,610	0,696	0,584	0,730	0,422	0,156	0,845	0,885	
Dysästhesien	0,287	0,865	0,787	0,765	0,567	0,244	0,341	+0,025	0,609	0,439	0,310	0,469	0,348	0,597	0,815	0,859	0,910	0,469	0,360	0,870	0,371	0,701	0,460	0,327	0,204	0,793	0,665	0,589	0,179	0,686	0,057	
pathologische Leukozyten	0,273	0,606	0,452	0,629	0,694	0,115	0,906	0,787	0,906	0,384	0,977	0,868	0,696	0,991	0,755	0,308	0,203	0,629	0,619	0,418	0,653	0,634	0,484	0,691	0,629	0,895	0,951	0,773	0,926	0,608	0,207	
BSG Erhöhung	0,070	0,155	+0,042	0,099	+0,012	0,170	0,221	+0,013	0,191	0,072	+0,024	+0,038	0,206	0,094	+0,009	+0,031	0,518	+0,030	0,119	0,097	+0,048	0,087	+0,014	0,068	0,141	0,060	+0,025	+0,018	0,061	0,302	0,890	
CRP Erhöhung	0,191	0,290	0,142	0,615	0,142	0,245	0,845	0,076	+0,038	+0,025	+0,014	0,192	0,063	0,062	0,267	0,071	0,482	+0,039	0,169	+0,041	+0,004	0,091	0,248	+0,011	0,830	0,419	+0,047	0,120	0,396	0,696	0,409	
CK-Erhöhung	0,708	0,362	0,357	0,156	0,552	0,254	0,312	0,513	0,641	0,925	0,777	0,724	0,179	0,284	0,420	0,533	0,929	0,645	0,612	0,483	0,683	0,802	1,000	0,338	0,973	0,124	0,134	0,706	0,398	0,915	0,656	
Komplement C3c Erniedrigung	0,803	0,688	0,851	0,727	0,420	0,933	0,712	0,306	0,591	0,665	0,990	0,995	0,959	0,530	0,856	0,995	0,826	0,513	0,964	0,434	0,707	0,990	0,120	0,441	0,874	0,943	0,221	0,902	0,793	0,244	0,415	
Komplement C4 Erniedrigung	0,203	+0,040	+0,007	+0,016	+0,008	0,215	0,054	+0,038	+0,017	+0,035	+0,001	+0,001	+0,004	+0,001	+0,005	0,265	+0,002	+0,002	+0,002	+0,008	+0,005	+0,006	+0,003	+0,004	0,094	0,584	+0,019	+0,005	0,151	+0,008	0,504	
IL2-Rezeptor Erhöhung	0,243	0,631	0,556	0,765	0,350	+0,050	0,189	0,166	0,289	0,710	0,863	0,738	0,269	0,664	0,360	0,463	0,130	0,195	0,497	0,964	0,135	0,807	0,400	0,509	+0,020	0,587	0,171	0,183	0,520	0,277	0,160	
ANA positiv	0,721	0,659	0,654	0,245	0,174	0,370	0,072	+0,027	+0,018	+0,046	0,076	+0,037	0,348	0,374	0,106	+0,040	0,110	0,141	0,054	0,806	0,413	0,955	0,127	0,287	0,488	0,795	0,515	0,195	0,097	0,117	0,066	
ANA Ratio erhöht	0,123	0,659	0,473	0,371	0,924	0,536	0,363	0,460	0,866	0,217	0,180	0,466	0,319	0,855	0,880	0,924	0,356	0,943	0,813	0,979	0,770	0,977	0,495	0,943	0,616	0,810	0,915	0,487	0,227	0,449	0,374	
Sci-70-Ak	0,522	+0,039	+0,000	+0,003	+0,016	0,845	0,459	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	+0,000	+0,006	+0,001	+0,000	0,137	0,071	+0,011	+0,000	+0,166	0,283	+0,021	0,236	+0,008	0,470	0,110	0,188	0,060	0,162	0,914	0,296	
CENP-B-Ak	0,905	-0,000	-0,000	-0,002	-0,000	0,086	-0,001	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,018	-0,029	-0,001	-0,000	-0,010	0,109	-0,007	0,312	-0,007	0,423	-0,026	-0,016	-0,018	0,461	0,275	0,639	
Medikation																																
Immun-suppression	0,493	0,291	0,703	0,842	0,919	0,289	0,696	0,634	0,918	0,794	0,839	0,487	0,906	0,415	0,412	0,751	0,887	0,119	0,931	0,261	0,232	0,264	0,108	0,323	0,448	0,397	0,809	0,974	0,991	0,547	0,166	
kombinierte Immunsuppression	0,537	0,904	0,517	0,201	0,349	0,646	0,792	0,851	0,724	0,447	0,470	0,892	0,370	0,472	0,863	0,704	0,498	0,810	0,857	0,527	0,836	0,484	0,517	0,630	0,952	0,356	0,851	0,857	0,641	+0,033	0,646	
Vasoaktive Medikamente	0,177	0,915	0,674	0,404	0,572	0,713	0,694	0,211	0,924	0,110	0,658	0,517	0,556	0,950	0,894	0,085	0,931	0,931	0,970	0,815	0,578	0,264	0,967	0,571	0,660	0,530	0,704	0,873	0,954	0,070	-0,050	
Glukokortikoide	0,184	0,211	0,407	0,131	0,159	-0,014	0,233	0,661	0,423	0,808	0,842	0,227	0,331	0,057	0,136	0,116	0,150	-0,017	0,510	0,129	0,053	0,609	0,181	0,065	0,099	0,797	0,089	0,296	0,500	0,103	-0,006	
Cyclophosphamid	0,345	+0,040	+0,050	+0,002	+0,003	+0,023	+0,003	+0,012	+0,007	+0,016	+0,001	+0,003	+0,037	+0,001	+0,006	+0,013	0,107	+0,004	+0,001	0,626	+0,003	+0,039	+0,000	+0,002	0,130	0,112	+0,002	+0,029	0,072	+0,003	0,084	
Azathioprin	0,380	0,846	0,650	0,979	0,973	0,350	0,800	0,713	0,598	0,593	0,423	0,561	0,684	0,477	0,626	0,992	0,570	0,640	0,957	0,552	0,846	0,237	0,979	0,920	0,997	0,095	0,6					

Antikörpertarget	CaSR	AT1R	ETAR	ETBR	PAR1	PAR2	ADR A1	ADR A2	ADR B1	ADR B2	M1R	M2R	M3R	M4R	M5R	CXC R3	CXC R4	C3aR	C5aR	VEGF- A	VEGF- R1	VEGF- R2	EGF	EGFR	FGF	HGF	HGFR	PIGF	PDGF- AA	PDGF- BB	sEng
AT1R-Antagonisten	0,177	0,915	0,674	0,404	0,572	0,713	0,694	0,211	0,924	0,110	0,658	0,517	0,556	0,950	0,894	0,085	0,931	0,931	0,970	0,815	0,578	0,264	0,967	0,571	0,660	0,530	0,704	0,873	0,954	0,070	0,050
Iloprost	0,465	0,819	0,682	0,954	0,954	0,954	0,644	0,852	0,269	0,826	0,321	0,759	0,993	0,934	0,671	0,123	0,212	0,726	0,567	0,083	0,809	0,477	0,560	0,442	0,921	0,740	0,840	0,110	0,922	0,055	0,325
ERA	0,770	0,498	0,876	0,286	0,544	0,997	0,402	0,182	0,986	0,891	0,522	0,376	0,144	0,590	0,464	0,182	0,496	0,657	0,525	0,591	0,757	0,665	0,144	0,365	0,100	0,929	0,356	0,148	0,890	0,601	0,294
Kalziumkanal-blocker	0,140	0,251	0,341	0,475	0,451	0,172	0,807	0,891	0,679	0,655	0,927	0,922	0,617	0,689	0,294	0,086	0,777	0,363	0,971	0,176	0,155	0,111	0,995	0,982	0,895	0,439	0,480	0,990	0,519	0,224	0,098
PDE-5-I	0,051	0,983	0,911	0,607	0,194	0,528	0,689	0,175	0,797	0,794	0,916	0,936	0,933	0,607	0,923	0,515	0,873	0,393	0,966	0,590	0,249	0,537	+0,026	0,946	0,735	0,735	0,564	0,533	0,303	0,868	0,450
ACE-Hemmer	0,577	+0,008	+0,012	0,227	0,113	+0,028	+0,005	0,501	0,054	0,704	0,229	0,081	0,258	0,177	-0,046	0,330	0,068	0,223	0,065	0,083	0,303	0,685	0,344	0,218	0,452	0,295	0,060	0,117	0,176	0,241	0,674
Betablocker	0,577	0,941	0,925	0,791	0,431	0,606	0,193	0,364	0,803	0,322	0,803	0,284	0,376	0,380	0,606	0,063	0,929	0,992	0,450	0,859	0,806	0,816	0,419	0,538	0,520	0,672	0,457	0,286	0,059	0,241	0,674
Statine	0,205	0,814	0,834	0,235	0,524	0,821	0,865	0,400	0,568	0,910	0,831	0,858	0,922	0,331	0,679	0,217	0,858	0,821	0,556	0,944	0,958	0,524	0,277	0,976	0,296	0,901	0,417	0,659	0,644	0,128	0,294
Diuretika	0,792	0,629	0,998	0,421	0,759	0,724	0,465	0,858	0,666	0,766	0,440	0,818	0,753	0,871	0,840	0,915	0,692	0,940	0,750	0,831	0,804	0,278	0,748	0,623	0,656	0,978	0,463	0,858	0,879	0,358	0,167
Vitamin D	0,140	0,357	0,198	0,245	0,214	0,588	0,113	0,998	0,288	0,674	0,609	0,645	0,560	0,933	0,523	0,313	0,461	0,542	0,209	0,580	0,591	0,374	0,250	0,204	0,844	0,213	0,376	0,991	0,308	0,105	0,086

7.5 Kooperation mit dem IMBS

7.5.1 Verteilung der Autoantikörperwerte

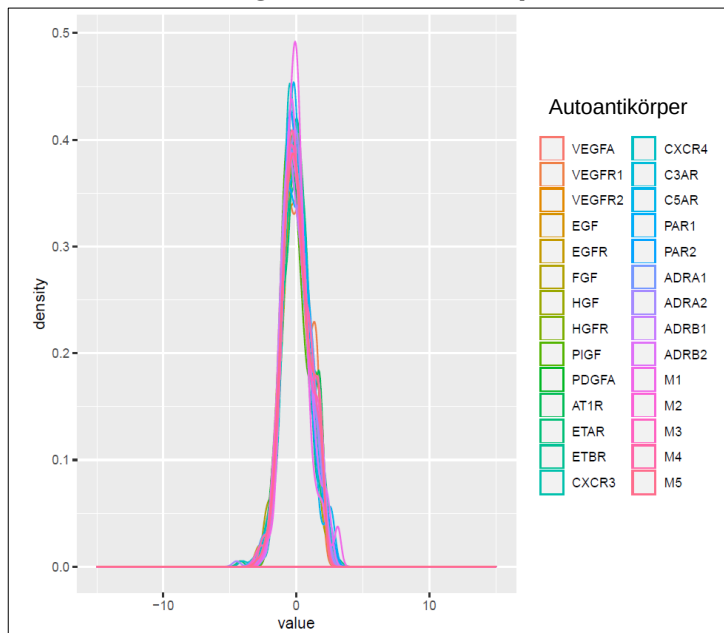


Abbildung 22: Empirische Verteilung der Autoantikörper-Level nach Box-Cox Powertransformation, Skalierung und Zentrierung

Nach der Datentransformation sind die Autoantikörper-Level von $n = 265$ Probanden ($n = 88$ Gesundkontrollen und $n = 177$ SSc-Patienten) annähernd normalverteilt.

7.5.2 Verteilung der kontinuierlichen klinischen Variablen

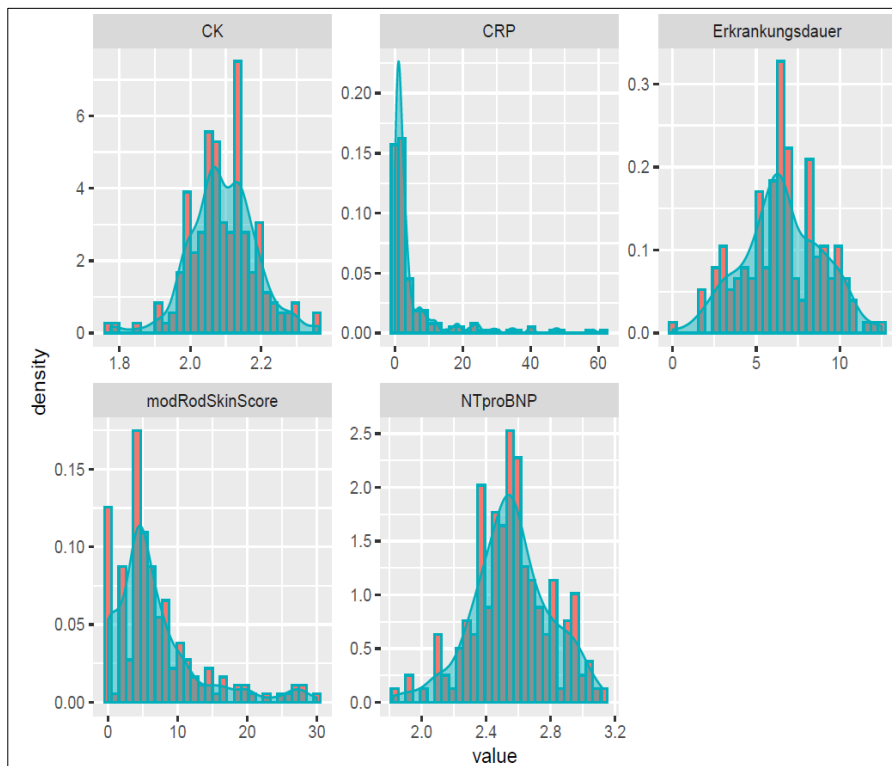


Abbildung 23: Empirische Verteilung der kontinuierlichen klinischen Variablen nach Imputation fehlender Werte und Box-Cox Powertransformation

Nach Imputation und Datentransformation sind Creatinkinase (CK), Erkrankungsdauer und N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) annähernd normalverteilt. Für C-reaktives Protein (CRP) und modified Rodnan skin score (modRodSkinScore) liegt eine schiefe Verteilung vor.

7.5.3 Konfidenzintervalle der klinischen Manifestationen der SSC

Tabelle 7-8: Autoantikörper(Ak)-Level-Konfidenzintervalle (KI) in den logistischen Regressionsmodellen für Ak-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen
Positive Effekte sind in Rot und negative Effekte in Blau markiert.

Klinische Manifestation Tab 7.6 Teil 1	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere	
	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze
Aktive Erkrankung nach EUSTAR (EUSTAR ≥ 2,5)	M5R	3,E-01	-1,E+14	2,E+14	EGFR	3,E+14	-3,E-01	6,E+13	M4R	5,E-02	-9,E-01	1,E+00	AT1R	-1,E+14	-7,E+14	4,E+14	ADRA2	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	VEGF-R1	3,E-01	-1,E+14	2,E+14	PDGF-AA	7,E-01	-2,E+14	3,E+14
	M2R	-4,E-02	-9,E-01	8,E-01	HGFR	9,E-01	-9,E-02	2,E+14	M3R	2,E-01	-2,E+14	2,E+14	VEGF-A	2,E-02	-4,E-01	4,E-01	ADRB1	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	CXCR4	7,E-02	-3,E-01	4,E-01	VEGF-R2	2,E-01	-3,E-01	7,E-01
	C3AR	2,E+14	-8,E-01	4,E+14	PIGF	3,E-01	-4,E-02	6,E-01	CXCR3	5,E-01	-2,E+14	3,E+14	ETAR	-1,E+14	-5,E+14	3,E+14	ADRB2	2,E-02	-4,E-03	5,E-02	EGF	1,E+14	-2,E-02	2,E+14	FGF	5,E-01	-5,E-01	1,E+14
	CSAR	1,E-01	-2,E-01	4,E-01					PAR2	3,E-01	-2,E-01	7,E-01	ADRA1	3,E-02	-8,E-04	5,E-02	M1R	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	PAR1	1,E-01	-4,E-01	6,E-01	HGF	1,E-01	-2,E-01	4,E-01
	ETBR	-6,E-02	-7,E-01	6,E-01																								
CENP-B-Ak	M5R	-2,E+14	-4,E+14	-7,E-01	EGFR	-4,E+14	-7,E+14	-4,E-01	M4R	-2,E+14	-3,E+14	-8,E-01	AT1R	-9,E+14	-2,E+14	-3,E+14	ADRA2	3,E-02	5,E-03	6,E-02	VEGF-R1	1,E+14	-6,E-02	3,E+13	PDGF-AA	-5,E-01	-2,E+14	2,E+14
	M2R	-2,E+14	-3,E+14	-8,E-01	HGFR	-1,E+00	-2,E+14	2,E-03	M3R	-5,E+14	-7,E+14	-2,E+14	VEGF-A	-3,E-01	-7,E-01	9,E-02	ADRB1	4,E-02	9,E-03	7,E-02	CXCR4	-3,E-01	-6,E-01	1,E-01	VEGF-R2	-6,E-01	-1,E+14	-1,E-01
	C3AR	-3,E+14	-5,E+14	-3,E-01	PIGF	-3,E-01	-6,E-01	7,E-02	CXCR3	-2,E+13	-5,E+14	1,E-02	ETAR	-8,E+14	-1,E+14	-3,E+14	ADRB2	3,E-02	5,E-03	6,E-02	EGF	-1,E-01	-1,E+14	1,E+00	FGF	-7,E-02	-9,E-01	8,E-01
	CSAR	-1,E+14	-2,E+14	-6,E-01					PAR2	-3,E-01	-6,E-01	1,E-01	ADRA1	3,E-02	6,E-03	6,E-02	M1R	-9,E-01	-1,E+14	-4,E-01	PAR1	-8,E-01	-1,E+14	-2,E-01	HGF	-2,E-01	-5,E-01	8,E-02
	ETBR	-8,E-01	-2,E+14	-2,E-01																								
Gastrointestinale Beteiligung	M5R	7,E-01	-9,E-01	2,E+14	EGFR	5,E-02	-3,E+14	3,E+13	M4R	8,E-02	-9,E-01	1,E+14	AT1R	2,E+14	-4,E+14	8,E+14	ADRA2	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	VEGF-R1	-4,E-01	-2,E+14	8,E-01	PDGF-AA	1,E+14	-6,E-01	4,E+14
	M2R	2,E-01	-6,E-01	1,E+14	HGFR	2,E-01	-7,E-01	1,E+14	M3R	1,E+14	-1,E+14	3,E+14	VEGF-A	6,E-02	-3,E-01	5,E-01	ADRB1	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	CXCR4	-1,E-01	-5,E-01	2,E-01	VEGF-R2	-2,E-01	-6,E-01	3,E-01
	C3AR	6,E-01	-2,E+13	3,E+14	PIGF	-2,E-02	-3,E-01	3,E-01	CXCR3	4,E-01	-2,E+14	3,E+14	ETAR	2,E+14	-2,E+14	6,E+14	ADRB2	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	EGF	-4,E-01	-2,E+14	8,E-01	FGF	-1,E-01	-1,E+00	7,E-01
	CSAR	1,E-01	-2,E-01	5,E-01					PAR2	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	ADRA1	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	M1R	1,E-01	-2,E-01	5,E-01	PAR1	1,E-02	-5,E-01	5,E-01	HGF	-2,E-01	-5,E-01	2,E-01
	ETBR	1,E-01	-5,E-01	7,E-01																								
Immunsuppression	M5R	-4,E-02	-2,E+14	2,E+14	EGFR	-9,E-01	-5,E+14	3,E+14	M4R	5,E-02	-1,E+14	1,E+14	AT1R	-2,E+14	-8,E+14	5,E+13	ADRA2	-3,E-02	-6,E-02	6,E-04	VEGF-R1	-3,E-01	-2,E+14	9,E-01	PDGF-AA	-3,E-01	-3,E+13	2,E+14
	M2R	-4,E-01	-1,E+14	6,E-01	HGFR	3,E-01	-8,E-01	1,E+14	M3R	6,E-01	-2,E+14	3,E+13	VEGF-A	-2,E-01	-6,E-01	3,E-01	ADRB1	-3,E-02	-5,E-02	2,E-03	CXCR4	1,E-01	-3,E-01	5,E-01	VEGF-R2	4,E-01	-2,E-01	1,E+00
	C3AR	-7,E-01	-3,E+13	2,E+14	PIGF	9,E-02	-3,E-01	5,E-01	CXCR3	7,E-01	-2,E+14	3,E+14	ETAR	-6,E-01	-5,E+14	4,E+14	ADRB2	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03	EGF	-7,E-01	-2,E+13	6,E-01	FGF	-1,E-01	-1,E+14	9,E-01
	CSAR	2,E-02	-4,E-01	4,E-01					PAR2	-3,E-02	-5,E-01	4,E-01	ADRA1	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03	M1R	-3,E-02	-5,E-01	5,E-01	PAR1	2,E-02	-5,E-01	6,E-01	HGF	-2,E-01	-5,E-01	2,E-01
	ETBR	2,E-01	-6,E-01	1,E+00																								
kritische Perfusion	M5R	1,E+14	-6,E-01	3,E+14	EGFR	1,E-01	-3,E+13	3,E+14	M4R	4,E-01	-6,E-01	1,E+14	AT1R	2,E+14	-3,E+14	8,E+14	ADRA2	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	VEGF-R1	-5,E-01	-2,E+13	1,E+00	PDGF-AA	2,E+14	-3,E-01	4,E+14
	M2R	4,E-02	-8,E-01	9,E-01	HGFR	2,E-01	-7,E-01	1,E+13	M3R	3,E-01	-2,E+14	2,E+14	VEGF-A	3,E-01	-1,E-01	7,E-01	ADRB1	-1,E-02	-3,E-02	1,E-02	CXCR4	-2,E-01	-6,E-01	2,E-01	VEGF-R2	5,E-01	-4,E-02	1,E+00
	C3AR	1,E+14	-1,E+14	3,E+14	PIGF	2,E-01	-2,E-01	5,E-01	CXCR3	1,E+14	-1,E+00	4,E+14	ETAR	4,E+14	-4,E-01	8,E+14	ADRB2	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	EGF	1,E-01	-1,E+14	1,E+14	FGF	3,E-01	-5,E-01	1,E+14
	CSAR	2,E-01	-1,E-01	6,E-01					PAR2	1,E-01	-3,E-01	5,E-01	ADRA1	-8,E-03	-3,E-02	2,E-02	M1R	3,E-02	-4,E-01	4,E-01	PAR1	4,E-01	-1,E-01	9,E-01	HGF	6,E-01	2,E-01	9,E-01
	ETBR	2,E-01	-5,E-01	8,E-01																								
Lungenfibrose	M5R	2,E+14	-2,E-01	4,E+14	EGFR	3,E+14	-1,E+14	7,E+14	M4R	9,E-01	-2,E-01	2,E+14	AT1R	7,E+14	-8,E-01	1,E+14	ADRA2	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	VEGF-R1	4,E-01	-9,E-01	2,E+14	PDGF-AA	1,E+14	-1,E+14	4,E+14
	M2R	1,E+14	2,E-01	2,E+14	HGFR	8,E-01	-4,E-01	2,E+14	M3R	3,E+14	-4,E-01	6,E+14	VEGF-A	2,E-01	-3,E-01	6,E-01	ADRB1	3,E-02	-7,E-03	6,E-02	CXCR4	2,E-01	-3,E-01	6,E-01	VEGF-R2	4,E-01	-2,E-01	1,E+00
	C3AR	3,E+13	-2,E-01	6,E+14	PIGF	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	CXCR3	2,E+14	-6,E-01	5,E+14	ETAR	5,E+14	-1,E+00	1,E+14	ADRB2	2,E-02	-8,E-03	6,E-02	EGF	1,E+14	-1,E-01	3,E+14	FGF	-9,E-02	-1,E+14	1,E+00
	CSAR	9,E-01	3,E-01	1,E+14					PAR2	-8,E-03	-5,E-01	5,E-01	ADRA1	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	M1R	9,E-01	3,E-01	1,E+14	PAR1	4,E-01	-3,E-01	1,E+14	HGF	2,E-01	-2,E-01	6,E-01
	ETBR	8,E-01	7,E-02	2,E+14																								
NT-proBNP Erhöhung	M5R	6,E-01	-1,E+14	3,E+14	EGFR	4,E+12	-4,E-01	9,E+14	M4R	8,E-01	-4,E-01	2,E+14	AT1R	3,E+14	-5,E+14	1,E+14	ADRA2	7,E-02	3,E-02	1,E-01	VEGF-R1	1,E+14	-3,E-01	3,E+14	PDGF-AA	1,E+14	-1,E+14	4,E+14
	M2R	7,E-01	-4,E-01	2,E+14	HGFR	6,E-01	-6,E-01	2,E+14	M3R	-7,E-02	-3,E+14	3,E+14	VEGF-A	9,E-02	-4,E-01	6,E-01	ADRB1	6,E-02	3,E-02	1,E-01	CXCR4	2,E-01	-3,E-01	6,E-01	VEGF-R2	-1,E-01	-8,E-01	5,E-01
	C3AR	4,E+14	4,E-01	7,E+14	PIGF	3,E-01	-2,E-01	7,E-01	CXCR3	3,E+14	-3,E-03	7,E+14	ETAR	1,E+14	-4,E+14	7,E+14	ADRB2	6,E-02	2,E-02	1,E-01	EGF	2,E+14	3,E-01	4,E+14	FGF	7,E-01	-4,E-01	2,E+14
	CSAR	6,E-01	9,E-02	1,E+14					PAR2	4,E-01	-2,E-01	9,E-01	ADRA1	6,E-02	3,E-02	1,E-01	M1R	4,E-01	-8,E-02	9,E-01	PAR1	4,E-01	-3,E-01	1,E+14	HGF	-1,E-01	-5,E-01	3,E-01
	ETBR	2,E-01	-6,E-01	1,E+14																								
Scl-70-Ak	M5R	1,E+14	-1,E+14	3,E+14	EGFR	7,E-01	-4,E+14	5,E+14	M4R	4,E-01	-7,E-01	2,E+14	AT1R	1,E+14	-6,E+14	8,E+14	ADRA2	5,E-02	1,E-02	8,E-02	CXCR4	9,E-02	-3,E-01	5,E-01	PDGF-AA	4,E-01	-2,E+14	3,E+14
	M2R	4,E-01	-6,E-01	1,E+14	HGFR	3,E-01	-9,E-01	1,E+14	M3R	2,E-01	-3,E+14	3,E+14	VEGF-A	1,E-01	-3,E-01	6,E-01	ADRB1	5,E-02	1,E-02	8,E-02	EGF	8,E-01	-6,E-01	2,E+14	VEGF-R2	3,E-02	-6,E-01	7,E-01
	C3AR	1,E+14	-2,E+13	4,E+14	PIGF	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	CXCR3	2,E+14	-1,E+13	5,E+14	ETAR	1,E+13	-4,E+14	6,E+14	ADRB2	5,E-02	1,E-02	8,E-02	PAR1	3,E-01	-3,E-01	1,E+00	FGF	6,E-01	-4,E-01	2,E+14
	CSAR	4,E-01	-7,E-02	9,E-01					PAR2	5,E-02	-4,E-01	6,E-01	ADRA1	5,E-02	1,E-02	8,E-02	M1R	4,E-01	-1,E-01	9,E-01	VEGF-R1	5,E-01	-1,E+14	2,E+14	HGF	-4,E-02	-4,E-01	4,E-01
	ETBR	3,E-01	-5,E-01	1,E+13																								
FVC < 80 %	M5R	3,E+14	5,E-01	5,E+13	EGFR	5,E+14	6,E-01	9,E+14	M4R	2,E+14	5,E-01	3,E+13	AT1R	5,E+14	-2,E+14	1,E+14	ADRA2	-2,E-02	-6,E-02	1,E-02	CXCR4	1,E-01	-3,E-01	6,E-01	PDGF-AA	2,E+14	-4,E-01	5,E+13
	M2R	3,E+14	1,E+14	4,E+14	HGFR	3,E-01	-8,E-01	1,E+14	M3R	3,E+14	-4,E-01	6,E+13	VEGF-A	3,E-01	-2,E-01	8,E-01	ADRB1	-3,E-02	-6,E-02	1,E-02	EGF	9,E-01	-5,E-01	2,E+14	VEGF-R2	7,E-01	2,E-02	1,E+14
	C3AR	3,E+14	-5,E-02	6,E+14	PIGF	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	CXCR3	2,E+14	-8,E-01	5,E+14	ETAR	1,E+14	4,E+13	2,E+14	ADRB2	-2,E-02	-6,E-02	2,E-02	PAR1	9,E-01	2,E-01	2,E+14	FGF	2,E-01	-7,E-01	1,E+14
	CSAR	1,E+14	5,E-01	2,E+14					PAR2	-1,E-01	-6,E-01	3,E-01	ADRA1	-3,E-02	-6,E-02	5,E-03	M1R	2,E+14	9,E-01	2,E+14	VEGF-R1	4,E-01	-1,E+14	2,E+14	HGF	4,E-01	-3,E-02	7,E-01
	ETBR	1,E+00	1,E-01	2,E+14												</												

Klinische Manifestation Tab 7.6 Teil 2	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere		Untere		Obere					
	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze	Ak	Effekt	KI-Grenze	KI-Grenze
sPAP > 25 mmHg	M5R	2,E-01	-2,E+14	2,E+14	EGFR	4,E+14	-5,E-01	9,E+14	M4R	2,E-01	-1,E+14	1,E+14	AT1R	-2,E+14	-1,E+15	7,E+14	ADRA2	8,E-02	3,E-02	1,E-01	CXCR4	3,E-01	-2,E-01	9,E-01	PDGF-AA	-9,E-01	-4,E+14	2,E+14
	M2R	3,E-01	-8,E-01	1,E+14	HGFR	8,E-01	-5,E-01	2,E+14	M3R	-2,E-01	-3,E+14	3,E+14	VEGF-A	-8,E-02	-7,E-01	5,E-01	ADRB1	8,E-02	3,E-02	1,E-01	EGF	1,E+14	-5,E-01	3,E+14	VEGF-R2	9,E-02	-6,E-01	7,E-01
	C3AR	1,E+14	-2,E+14	5,E+14	PIGF	6,E-02	-4,E-01	5,E-01	CXCR3	1,E+14	-2,E+14	5,E+14	ETAR	-1,E+14	-7,E+14	5,E+14	ADRB2	8,E-02	3,E-02	1,E-01	PAR1	-4,E-01	-1,E+14	4,E-01	FGF	7,E-01	-5,E-01	2,E+14
	CSAR	1,E-01	-3,E-01	6,E-01					PAR2	9,E-02	-5,E-01	6,E-01	ADRA1	8,E-02	3,E-02	1,E-01	M1R	2,E-01	-3,E-01	7,E-01	VEGF-R1	2,E-01	-1,E+13	2,E+14	HGF	-1,E-01	-6,E-01	4,E-01
	ETBR	4,E-02	-8,E-01	9,E-01																								
Verlaufsform (limitiert)	M5R	-2,E+14	-3,E+14	2,E-01	EGFR	-4,E+12	-7,E+14	-3,E-01	M4R	-1,E+00	-2,E+14	2,E-02	AT1R	-6,E+14	-1,E+14	-4,E-02	ADRA2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	CXCR4	-2,E-01	-6,E-01	2,E-01	PDGF-AA	-5,E-01	-3,E+14	2,E+14
	M2R	-1,E+14	-2,E+14	-4,E-01	HGFR	-1,E+00	-2,E+14	6,E-02	M3R	-2,E+14	-4,E+14	4,E-01	VEGF-A	-2,E-01	-7,E-01	2,E-01	ADRB1	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	EGF	-2,E-01	-1,E+14	1,E+13	VEGF-R2	-6,E-01	-1,E+14	4,E-03
	C3AR	-1,E+14	-4,E+14	1,E+14	PIGF	-1,E-01	-5,E-01	3,E-01	CXCR3	-1,E+14	-4,E+14	1,E+14	ETAR	-6,E+14	-1,E+14	-8,E-01	ADRB2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PAR1	-6,E-01	-1,E+12	-1,E-01	FGF	-4,E-01	-1,E+14	4,E-01
	CSAR	-6,E-01	-1,E+14	-2,E-01					PAR2	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	ADRA1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M1R	-8,E-01	-1,E+14	-3,E-01	VEGF-R1	-2,E-01	-1,E+14	1,E+14	HGF	-9,E-02	-4,E-01	3,E-01
	ETBR	-6,E-01	-1,E+14	6,E-02																								
TLCO < 80 %	M5R	2,E+13	9,E-02	4,E+14	EGFR	1,E+14	-2,E+13	5,E+13	M4R	1,E+14	6,E-02	2,E+14	AT1R	7,E+14	5,E-01	1,E+14	ADRA2	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	CXCR4	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	PDGF-AA	3,E+14	5,E-01	6,E+14
	M2R	8,E-01	-1,E-01	2,E+14	HGFR	9,E-01	-1,E-01	2,E+14	M3R	1,E+14	-1,E+14	4,E+14	VEGF-A	4,E-01	-9,E-02	8,E-01	ADRB1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	EGF	2,E+14	9,E-01	4,E+12	VEGF-R2	6,E-01	6,E-02	1,E+14
	C3AR	2,E+14	-5,E-01	5,E+14	PIGF	2,E-01	-2,E-01	5,E-01	CXCR3	3,E-01	-2,E+12	3,E+13	ETAR	5,E+13	3,E-01	1,E+15	ADRB2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PAR1	2,E-01	-3,E-01	8,E-01	FGF	2,E-01	-7,E-01	1,E+14
	CSAR	5,E-01	8,E-02	1,E+00					PAR2	1,E-01	-3,E-01	5,E-01	ADRA1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M1R	1,E+00	4,E-01	2,E+14	VEGF-R1	6,E-01	-8,E-01	2,E+14	HGF	1,E-02	-3,E-01	3,E-01
	ETBR	7,E-01	-3,E-02	1,E+14																								
vasoaktive Medikamente	M5R	6,E-01	-1,E+14	2,E+14	EGFR	-6,E-01	-4,E+14	3,E+14	M4R	3,E-01	-6,E-01	1,E+14	AT1R	1,E+14	-4,E+14	7,E+14	ADRA2	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	CXCR4	-5,E-03	-4,E-01	3,E-01	PDGF-AA	5,E-01	-2,E+14	3,E+14
	M2R	-9,E-02	-9,E-01	7,E-01	HGFR	4,E-01	-6,E-01	1,E+14	M3R	8,E-01	-1,E+14	3,E+14	VEGF-A	9,E-02	-3,E-01	5,E-01	ADRB1	1,E-02	-9,E-03	4,E-02	EGF	-1,E-01	-1,E+14	9,E-01	VEGF-R2	4,E-01	-1,E-01	9,E-01
	C3AR	1,E+14	-1,E+13	3,E+14	PIGF	7,E-02	-2,E-01	4,E-01	CXCR3	3,E+14	3,E-01	5,E+14	ETAR	1,E+14	-2,E+14	5,E+14	ADRB2	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	PAR1	3,E-01	-2,E-01	7,E-01	FGF	4,E-01	-5,E-01	1,E+14
	CSAR	2,E-01	-2,E-01	5,E-01					PAR2	2,E-01	-2,E-01	6,E-01	ADRA1	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	M1R	-2,E-02	-4,E-01	3,E-01	VEGF-R1	5,E-01	-7,E-01	2,E+14	HGF	-5,E-02	-3,E-01	2,E-01
	ETBR	-1,E-01	-7,E-01	5,E-01																								

Tabelle 7-9: Autoantikörper(Ak)-Level-Konfidenzintervalle (KI) in den linearen Regressionsmodellen für Ak-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen
Positive Effekte sind in Rot und negative Effekte in Blau markiert.

Klinische Manifestation	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze		Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze
Creatinkinase (CK)	C3AR	-4,E-02	-1,E-01	5,E-02	EGFR	-6,E-02	-2,E-01	8,E-02	M4R	8,E-03	-3,E-02	5,E-02	AT1R	-3,E-04	-2,E-01	2,E-01	ADRA2	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	VEGF-R1	-1,E-02	-6,E-02	4,E-02	PDGF-AA	7,E-03	-8,E-02	9,E-02
	CSAR	-1,E-03	-2,E-02	1,E-02	HGFR	2,E-03	-4,E-02	4,E-02	M3R	5,E-02	-4,E-02	1,E-01	VEGF-A	-4,E-03	-2,E-02	1,E-02	ADRB1	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	CXCR4	-9,E-03	-2,E-02	6,E-03	VEGF-R2	-5,E-03	-3,E-02	2,E-02
	ETBR	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	PIGF	-3,E-03	-2,E-02	1,E-02	CXCR3	-1,E-02	-1,E-01	8,E-02	ETAR	-2,E-02	-2,E-01	1,E-01	ADRB2	-1,E-04	-1,E-03	9,E-04	EGF	-4,E-02	-9,E-02	5,E-03	FGF	-2,E-02	-5,E-02	2,E-02
	M2R	2,E-03	-3,E-02	4,E-02					PAR2	3,E-03	-1,E-02	2,E-02	ADRA1	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	M1R	-4,E-04	-2,E-02	1,E-02	PAR1	-6,E-03	-3,E-02	1,E-02	HGF	1,E-03	-1,E-02	1,E-02
	M5R	-6,E-03	-7,E-02	6,E-02																								
C-reaktives Protein (CRP)	C3AR	4,E+14	-6,E+14	2,E+14	EGFR	1,E+14	-3,E+13	3,E+14	M4R	4,E-01	-4,E+14	5,E+14	AT1R	-4,E+12	-3,E+14	2,E+14	ADRA2	1,E-01	-7,E-03	2,E-01	VEGF-R1	4,E+14	-1,E+14	1,E+14	PDGF-AA	2,E+14	-8,E+14	1,E+14
	CSAR	9,E-01	-6,E-01	2,E+14	HGFR	2,E+14	-3,E+14	6,E+14	M3R	1,E-01	-1,E+15	1,E+14	VEGF-A	-5,E-03	-2,E+14	2,E+13	ADRB1	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	CXCR4	-2,E-01	-2,E+14	1,E+14	VEGF-R2	8,E-01	-2,E+14	3,E+14
	ETBR	-7,E-01	-4,E+14	2,E+14	PIGF	-8,E-02	-2,E+14	1,E+14	CXCR3	5,E+14	-5,E+14	2,E+14	ETAR	4,E+14	-1,E+14	2,E+14	ADRB2	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	EGF	2,E+14	-3,E+14	8,E+13	FGF	1,E+13	-3,E+14	5,E+14
	M2R	2,E+14	-2,E+14	6,E+14					PAR2	-3,E-01	-2,E+14	2,E+14	ADRA1	9,E-02	-2,E-02	2,E-01	M1R	2,E+14	1,E-01	4,E+14	PAR1	1,E+14	-8,E-01	4,E+14	HGF	4,E-01	-1,E+14	2,E+14
	M5R	1,E+14	-6,E+14	9,E+14																								
Erkrankungsdauer	C3AR	-9,E-01	-3,E+14	1,E+14	EGFR	-3,E+13	-6,E+14	7,E-01	M4R	1,E-01	-8,E-01	1,E+13	AT1R	-3,E+13	-9,E+14	3,E+14	ADRA2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-R1	2,E-01	-1,E+14	1,E+14	PDGF-AA	5,E-01	-2,E+14	3,E+14
	CSAR	-8,E-02	-4,E-01	3,E-01	HGFR	-4,E-01	-1,E+14	5,E-01	M3R	7,E-01	-2,E+14	3,E+14	VEGF-A	-2,E-01	-6,E-01	2,E-01	ADRB1	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	CXCR4	-1,E-01	-5,E-01	3,E-01	VEGF-R2	3,E-01	-3,E-01	8,E-01
	ETBR	-1,E-01	-8,E-01	5,E-01	PIGF	9,E-02	-2,E-01	4,E-01	CXCR3	3,E-01	-2,E+14	3,E+14	ETAR	-8,E-01	-5,E+14	3,E+14	ADRB2	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	EGF	-4,E-01	-2,E+14	8,E-01	FGF	2,E-01	-7,E-01	1,E+14
	M2R	-4,E-01	-1,E+14	5,E-01					PAR2	1,E-01	-3,E-01	5,E-01	ADRA1	7,E-03	-2,E-02	3,E-02	M1R	-2,E-01	-5,E-01	2,E-01	PAR1	-3,E-01	-8,E-01	2,E-01	HGF	-4,E-01	-7,E-01	-1,E-01
	M5R	-6,E-02	-2,E+14	2,E+14																								
modified Rodnan skin score (mRSS)	C3AR	3,E+14	-3,E+14	9,E+14	EGFR	3,E+14	-6,E+14	1,E+14	M4R	2,E+14	-8,E-01	4,E+14	AT1R	-5,E+14	-2,E+14	1,E+14	ADRA2	-2,E-03	-7,E-02	7,E-02	VEGF-R1	4,E-01	-3,E+14	4,E+14	PDGF-AA	-2,E+14	-8,E+14	4,E+14
	CSAR	1,E+14	2,E-01	2,E+14	HGFR	1,E+14	-2,E+13	4,E+14	M3R	3,E+14	-3,E+14	9,E+14	VEGF-A	-6,E-02	-1,E+13	1,E+14	ADRB1	-4,E-03	-7,E-02	6,E-02	CXCR4	-2,E-02	-1,E+14	1,E+00	VEGF-R2	3,E-01	-1,E+14	2,E+14
	ETBR	8,E-01	-9,E-01	3,E+14	PIGF	1,E-01	-8,E-01	1,E+14	CXCR3	6,E+14	-4,E-01	1,E+14	ETAR	2,E+14	-9,E+14	1,E+14	ADRB2	-4,E-03	-7,E-02	7,E-02	EGF	1,E+14	-2,E+13	5,E+14	FGF	1,E+00	-1,E+14	3,E+14
	M2R	2,E+14	-7,E-01	4,E+14					PAR2	-6,E-02	-1,E+14	1,E+14	ADRA1	-1,E-02	-8,E-02	6,E-02	M1R	1,E+13	1,E-01	2,E+14	PAR1	5,E-01	-8,E-01	2,E+14	HGF	1,E-01	-7,E-01	1,E+00
	M5R	3,E+14	-2,E+14	7,E+14																								
N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP)	C3AR	2,E-01	-1,E-02	4,E-01	EGFR	2,E-01	-1,E-01	5,E-01	M4R	3,E-02	-5,E-02	1,E-01	AT1R	7,E-02	-4,E-01	6,E-01	ADRA2	1,E-02	7,E-03	1,E-02	VEGF-R1	7,E-02	-3,E-02	2,E-01	PDGF-AA	9,E-02	-1,E-01	3,E-01
	CSAR	2,E-02	-9,E-03	5,E-02	HGFR	1,E-02	-7,E-02	9,E-02	M3R	-1,E-01	-3,E-01	9,E-02	VEGF-A	1,E-02	-2,E-02	5,E-02	ADRB1	1,E-02	7,E-03	1,E-02	CXCR4	5,E-03	-3,E-02	4,E-02	VEGF-R2	2,E-03	-4,E-02	5,E-02
	ETBR	7,E-03	-5,E-02	6,E-02	PIGF	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	CXCR3	-6,E-02	-3,E-01	1,E-01	ETAR	3,E-02	-3,E-01	4,E-01	ADRB2	1,E-02	7,E-03	1,E-02	EGF	2,E-01	7,E-02	3,E-01	FGF	5,E-02	-2,E-02	1,E-01
	M2R	4,E-02	-4,E-02	1,E-01					PAR2	-6,E-03	-4,E-02	3,E-02	ADRA1	1,E-02	7,E-03	1,E-02	M1R	3,E-02	2,E-03	7,E-02	PAR1	2,E-02	-3,E-02	6,E-02	HGF	-9,E-03	-4,E-02	2,E-02
	M5R	2,E-03	-1,E-01	1,E-01																								

7.5.4 Alters-Konfidenzintervalle der Regressionsmodelle

Tabelle 7-10 Alters-Konfidenzintervalle (KI) in den logistischen Regressionsmodellen für Autoantikörper (Ak)-Level, Alter und dichotome klinische Manifestationen
Positive Effekte sind in Rot und negative Effekte in Blau markiert.

Klinische Manifestation Tab 7.8 Teil 1	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze
aktive Erkrankung nach EUSTAR (EUSTAR ≥ 2,5)	M5R	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	EGFR	3,E-02	5,E-04	5,E-02	M4R	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	AT1R	2,E-02	-5,E-03	5,E-02	ADRA2	1,E-01	-4,E+14	4,E+14	VEGF-R1	3,E-02	4,E-03	6,E-02	PDGF-AA	2,E-02	-2,E-03	5,E-02
	M2R	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	HGFR	3,E-02	2,E-04	5,E-02	M3R	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	VEGF-A	2,E-02	-4,E-03	5,E-02	ADRB1	-2,E-02	-5,E-01	4,E-01	CXCR4	2,E-02	-2,E-03	5,E-02	VEGF-R2	2,E-02	-2,E-03	5,E-02
	C3AR	3,E-02	4,E-04	5,E-02	PIGF	3,E-02	3,E-03	6,E-02	CXCR3	2,E-02	-2,E-03	5,E-02	ETAR	2,E-02	-5,E-03	5,E-02	ADRB2	-2,E-01	-6,E-01	3,E-01	EGF	3,E-02	2,E-03	6,E-02	FGF	2,E-02	-3,E-03	5,E-02
	CSAR	2,E-02	-2,E-03	5,E-02					PAR2	3,E-02	-1,E-03	5,E-02	ADRA1	2,E+14	-2,E+14	6,E+14	M1R	2,E-02	-2,E-03	5,E-02	PAR1	2,E-02	-2,E-03	5,E-02	HGF	2,E-02	-2,E-03	5,E-02
	ETBR	2,E-02	-4,E-03	5,E-02																								
CENP-B-Ak	M5R	3,E-02	2,E-03	5,E-02	EGFR	3,E-02	9,E-03	6,E-02	M4R	3,E-02	7,E+09	5,E-02	AT1R	3,E-02	1,E-03	5,E-02	ADRA2	-9,E+14	-1,E+14	-4,E+14	VEGF-R1	3,E-02	8,E-03	6,E-02	PDGF-AA	4,E-02	1,E-02	6,E-02
	M2R	3,E-02	3,E-03	6,E-02	HGFR	3,E-02	8,E-03	6,E-02	M3R	2,E-02	-3,E-03	5,E-02	VEGF-A	3,E-02	3,E-03	6,E-02	ADRB1	-1,E+14	-2,E+14	-8,E-01	CXCR4	3,E-02	8,E-03	6,E-02	VEGF-R2	3,E-02	8,E-03	6,E-02
	C3AR	3,E-02	7,E-03	6,E-02	PIGF	3,E-02	4,E-03	6,E-02	CXCR3	3,E-02	7,E-03	6,E-02	ETAR	3,E-02	2,E-03	5,E-02	ADRB2	-1,E+14	-2,E+14	-5,E-01	EGF	4,E-02	1,E-02	6,E-02	FGF	4,E-02	1,E-02	6,E-02
	CSAR	3,E-02	4,E-03	6,E-02					PAR2	3,E-02	8,E-03	6,E-02	ADRA1	-6,E+14	-1,E+14	-2,E+14	M1R	4,E-02	1,E-02	7,E-02	PAR1	3,E-02	3,E-03	5,E-02	HGF	3,E-02	8,E-03	6,E-02
	ETBR	3,E-02	4,E-03	6,E-02																								
Gastrointestinale Beteiligung	M5R	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	EGFR	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	M4R	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	AT1R	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	ADRA2	3,E+14	-1,E+14	8,E+14	VEGF-R1	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	PDGF-AA	2,E-02	-1,E-02	4,E-02
	M2R	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	HGFR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	M3R	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	VEGF-A	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	ADRB1	3,E-01	-2,E-01	7,E-01	CXCR4	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	VEGF-R2	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	C3AR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	PIGF	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	CXCR3	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ETAR	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	ADRB2	2,E-01	-3,E-01	6,E-01	EGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	FGF	2,E-02	-1,E-02	4,E-02
	CSAR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02					PAR2	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ADRA1	2,E+14	-2,E+14	6,E+14	M1R	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	PAR1	2,E-02	-1,E-02	4,E-02	HGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	ETBR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02																								
Immunsuppression	M5R	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03	EGFR	-3,E-02	-6,E-02	8,E-04	M4R	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03	AT1R	-3,E-02	-6,E-02	4,E-04	ADRA2	-1,E+14	-7,E+13	4,E+14	VEGF-R1	-3,E-02	-6,E-02	-4,E+09	PDGF-AA	-3,E-02	-6,E-02	1,E-03
	M2R	-3,E-02	-6,E-02	-3,E-04	HGFR	-3,E-02	-5,E-02	2,E-03	M3R	-3,E-02	-5,E-02	4,E-03	VEGF-A	-3,E-02	-6,E-02	-4,E-04	ADRB1	1,E-01	-5,E-01	7,E-01	CXCR4	-3,E-02	-5,E-02	2,E-03	VEGF-R2	-2,E-02	-5,E-02	4,E-03
	C3AR	-3,E-02	-6,E-02	7,E-04	PIGF	-2,E-02	-5,E-02	5,E-03	CXCR3	-3,E-02	-5,E-02	2,E-03	ETAR	-3,E-02	-6,E-02	1,E-03	ADRB2	1,E-02	-6,E-01	6,E-01	EGF	-3,E-02	-6,E-02	3,E-04	FGF	-3,E-02	-6,E-02	1,E-03
	CSAR	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03					PAR2	-3,E-02	-6,E-02	1,E-03	ADRA1	4,E-01	-4,E+14	5,E+14	M1R	-3,E-02	-6,E-02	1,E-03	PAR1	-3,E-02	-6,E-02	2,E-03	HGF	-3,E-02	-6,E-02	-2,E-04
	ETBR	-3,E-02	-5,E-02	3,E-03																								
kritische Perfusion	M5R	-7,E-03	-3,E-02	2,E-02	EGFR	-1,E-02	-3,E-02	2,E-02	M4R	-8,E-03	-3,E-02	2,E-02	AT1R	-8,E-03	-3,E-02	2,E-02	ADRA2	8,E-01	-4,E+14	5,E+14	VEGF-R1	-8,E-03	-3,E-02	2,E-02	PDGF-AA	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02
	M2R	-1,E-02	-3,E-02	2,E-02	HGFR	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	M3R	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	VEGF-A	-5,E-03	-3,E-02	2,E-02	ADRB1	3,E-02	-4,E-01	5,E-01	CXCR4	-1,E-02	-4,E-02	1,E-02	VEGF-R2	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02
	C3AR	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	PIGF	-7,E-03	-3,E-02	2,E-02	CXCR3	-8,E-03	-3,E-02	2,E-02	ETAR	-6,E-03	-3,E-02	2,E-02	ADRB2	2,E-01	-3,E-01	6,E-01	EGF	-1,E-02	-3,E-02	2,E-02	FGF	-1,E-02	-4,E-02	1,E-02
	CSAR	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02					PAR2	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02	ADRA1	2,E+14	-2,E+14	6,E+14	M1R	-1,E-02	-3,E-02	1,E-02	PAR1	-7,E-03	-3,E-02	2,E-02	HGF	-5,E-03	-3,E-02	2,E-02
	ETBR	-9,E-03	-3,E-02	2,E-02																								
Lungenfibrose	M5R	2,E-02	-8,E-03	6,E-02	EGFR	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	M4R	2,E-02	-9,E-03	6,E-02	AT1R	2,E-02	-9,E-03	5,E-02	ADRA2	5,E+14	-5,E-01	1,E+14	VEGF-R1	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	PDGF-AA	2,E-02	-1,E-02	5,E-02
	M2R	3,E-02	-6,E-03	6,E-02	HGFR	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	M3R	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	VEGF-A	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	ADRB1	1,E+14	4,E-01	2,E+14	CXCR4	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	VEGF-R2	2,E-02	-1,E-02	5,E-02
	C3AR	2,E-02	-8,E-03	6,E-02	PIGF	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	CXCR3	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	ETAR	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	ADRB2	8,E-01	2,E-01	1,E+14	EGF	3,E-02	-8,E-03	6,E-02	FGF	2,E-02	-2,E-02	5,E-02
	CSAR	3,E-02	-3,E-03	6,E-02					PAR2	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	ADRA1	5,E+14	-4,E-01	1,E+14	M1R	2,E-02	-8,E-03	6,E-02	PAR1	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	HGF	2,E-02	-1,E-02	5,E-02
	ETBR	2,E-02	-8,E-03	6,E-02																								
NT-proBNP Erhöhung	M5R	6,E-02	2,E-02	1,E-01	EGFR	7,E-02	3,E-02	1,E-01	M4R	7,E-02	3,E-02	1,E-01	AT1R	6,E-02	2,E-02	1,E-01	ADRA2	4,E+14	-2,E+14	9,E+13	VEGF-R1	7,E-02	3,E-02	1,E-01	PDGF-AA	6,E-02	2,E-02	1,E-01
	M2R	6,E-02	3,E-02	1,E-01	HGFR	6,E-02	3,E-02	1,E-01	M3R	6,E-02	2,E-02	1,E-01	VEGF-A	6,E-02	2,E-02	1,E-01	ADRB1	7,E-01	4,E-02	1,E+14	CXCR4	6,E-02	2,E-02	1,E-01	VEGF-R2	6,E-02	2,E-02	1,E-01
	C3AR	7,E-02	3,E-02	1,E-01	PIGF	7,E-02	3,E-02	1,E-01	CXCR3	7,E-02	3,E-02	1,E-01	ETAR	6,E-02	2,E-02	1,E-01	ADRB2	2,E-01	-3,E-01	8,E-01	EGF	7,E-02	3,E-02	1,E-01	FGF	6,E-02	2,E-02	1,E-01
	CSAR	7,E-02	3,E-02	1,E-01					PAR2	7,E-02	3,E-02	1,E-01	ADRA1	3,E+14	-3,E+13	8,E+14	M1R	6,E-02	2,E-02	1,E-01	PAR1	6,E-02	3,E-02	1,E-01	HGF	6,E-02	2,E-02	9,E-02
	ETBR	6,E-02	2,E-02	1,E-01																								
FVC < 80 %	M5R	5,E-02	1,E-02	9,E-02	EGFR	5,E-02	1,E-02	8,E-02	M4R	5,E-02	1,E-02	9,E-02	AT1R	5,E-02	1,E-02	8,E-02	ADRA2	4,E+14	-3,E+14	1,E+14	CXCR4	5,E-02	1,E-02	9,E-02	PDGF-AA	5,E-02	1,E-02	8,E-02
	M2R	5,E-02	1,E-02	9,E-02	HGFR	5,E-02	1,E-02	8,E-02	M3R	5,E-02	1,E-02	8,E-02	VEGF-A	5,E-02	1,E-02	9,E-02	ADRB1	3,E-01	-3,E-01	9,E-01	EGF	5,E-02	1,E-02	9,E-02	VEGF-R2	5,E-02	1,E-02	8,E-02
	C3AR	5,E-02	1,E-02	9,E-02	PIGF	5,E-02	1,E-02	9,E-02	CXCR3	5,E-02	1,E-02	9,E-02	ETAR	5,E-02	1,E-02	8,E-02	ADRB2	3,E-01	-3,E-01	9,E-01	PAR1	5,E-02	1,E-02	9,E-02	FGF	5,E-02	1,E-02	8,E-02
	CSAR	5,E-02	1,E-02	8,E-02					PAR2	5,E-02	1,E-02	8,E-02	ADRA1	-1,E-01	-5,E+13	5,E+14	M1R	4,E-02	7,E-03	8,E-02	VEGF-R1	5,E-02	1,E-02	9,E-02	HGF	5,E-02	1,E-02	8,E-02
	ETBR	5,E-02	1,E-02	8,E-02																								
Scl-70-Ak	M5R	-2,E-02	-5,E-02	1,E-02	EGFR	-3,E-02	-6,E-02	6,E-03	M4R	-2,E-02	-5,E-02	1,E-02	AT1R	-2,E-02	-6,E-02	7,E-03	ADRA2	1,E+14	6,E+14	2,E+14	CXCR4	-3,E-02	-6,E-02	5,E-03	PDGF-AA	-3,E-02	-6,E-02	5,E-03
	M2R	-2,E-02	-6,E-02	1,E-02	HGFR	-3,E-02	-6,E-02	4,E-03	M3R	-2,E-02	-6,E-02	9,E-03	VEGF-A	-2,E-02	-6,E-02	8,E-03	ADRB1	2,E+12	1,E+14	3,E+14	EGF	-3,E-02	-6,E-02	5,E-03	VEGF-R2	-3,E-02	-6,E-02	5,E-03
	C3AR	-2,E-02	-6,E-02	8,E-03	PIGF	-2,E-02	-6,E-02	8,E-03	CXCR3	-2,E-02	-6,E-02	7,E-03	ETAR	-2,E-02	-5,E-02	1,E-02	ADRB2	2,E+13	1,E+14	3,E+13	PAR1	-2,E-02	-6,E-02	9,E-03	FGF	-3,E-02	-6,E-02	3,E-03
	CSAR	-2,E-02	-6,E-02	1,E-02					PAR2	-3,E-02	-6,E-02	3,E-03	ADRA1	2,E+14	-3,E+14	7,E+14	M1R	-3,E-02	-7,E-02	4,E-03	VEGF-R1	-2,E-02	-6,E-02	9,E-03	HGF	-3,E-02	-6,E-02	3,E-03
	ETBR	-2,E-02	-6,E-02	1,E-02																								

Klinische Manifestation Tab 7.8 Teil 2	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze
sPAP > 25 mmHg	M5R	8,E-02	3,E-02	1,E-01	EGFR	9,E-02	4,E-02	1,E-01	M4R	8,E-02	4,E-02	1,E-01	AT1R	8,E-02	3,E-02	1,E-01	ADRA2	3,E-01	-6,E+14	6,E+14	CXCR4	8,E-02	4,E-02	1,E-01	PDGF-AA	8,E-02	4,E-02	1,E-01
	M2R	8,E-02	4,E-02	1,E-01	HGFR	8,E-02	4,E-02	1,E-01	M3R	8,E-02	3,E-02	1,E-01	VEGF-A	8,E-02	3,E-02	1,E-01	ADRB1	-7,E-02	-7,E-01	5,E-01	EGF	8,E-02	4,E-02	1,E-01	VEGF-R2	8,E-02	4,E-02	1,E-01
	C3AR	8,E-02	4,E-02	1,E-01	PIGF	8,E-02	4,E-02	1,E-01	CXCR3	8,E-02	4,E-02	1,E-01	ETAR	8,E-02	3,E-02	1,E-01	ADRB2	-1,E-01	-7,E-01	5,E-01	PAR1	8,E-02	4,E-02	1,E-01	FGF	8,E-02	4,E-02	1,E-01
	C5AR	8,E-02	4,E-02	1,E-01					PAR2	8,E-02	4,E-02	1,E-01	ADRA1	-2,E+14	-8,E+14	3,E+14	M1R	8,E-02	4,E-02	1,E-01	VEGF-R1	7,E-02	3,E-02	1,E-01	HGF	8,E-02	3,E-02	1,E-01
	ETBR	8,E-02	3,E-02	1,E-01																								
Verlaufsform (limitiert)	M5R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	EGFR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M4R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	AT1R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	ADRA2	-7,E+14	-1,E+14	-2,E+14	CXCR4	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	PDGF-AA	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	M2R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	HGFR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M3R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	VEGF-A	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	ADRB1	-1,E+00	-2,E+14	-4,E-01	EGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	VEGF-R2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02
	C3AR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PIGF	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	CXCR3	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	ETAR	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	ADRB2	-8,E-01	-1,E+14	-3,E-01	PAR1	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	FGF	2,E-02	-1,E-02	4,E-02
	C5AR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02					PAR2	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	ADRA1	-3,E+14	-7,E+14	1,E+14	M1R	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	VEGF-R1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	HGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	ETBR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02																								
TLCO < 80 %	M5R	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	EGFR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M4R	2,E-02	-1,E-02	5,E-02	AT1R	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	ADRA2	6,E+13	9,E-01	1,E+14	CXCR4	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PDGF-AA	9,E-03	-2,E-02	4,E-02
	M2R	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	HGFR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	M3R	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-A	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	ADRB1	5,E-01	-7,E-02	1,E+14	EGF	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-R2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02
	C3AR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PIGF	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	CXCR3	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	ETAR	1,E-02	-2,E-02	5,E-02	ADRB2	6,E-01	9,E-02	1,E+14	PAR1	2,E-02	-2,E-02	5,E-02	FGF	9,E-03	-2,E-02	4,E-02
	C5AR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02					PAR2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	ADRA1	5,E+14	1,E-01	1,E+14	M1R	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-R1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	HGF	9,E-03	-2,E-02	4,E-02
	ETBR	1,E-02	-2,E-02	4,E-02																								
vasoaktive Medikamente	M5R	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	EGFR	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	M4R	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	AT1R	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ADRA2	-9,E-03	-4,E+14	4,E+14	CXCR4	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	PDGF-AA	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	M2R	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	HGFR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	M3R	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	VEGF-A	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ADRB1	2,E-01	-2,E-01	7,E-01	EGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	VEGF-R2	2,E-02	-8,E-03	4,E-02
	C3AR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	PIGF	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	CXCR3	2,E-02	-7,E-03	4,E-02	ETAR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ADRB2	-1,E-01	-5,E-01	3,E-01	PAR1	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	FGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	C5AR	2,E-02	-9,E-03	4,E-02					PAR2	2,E-02	-9,E-03	4,E-02	ADRA1	1,E+14	-2,E+14	5,E+14	M1R	1,E-02	-1,E-02	4,E-02	VEGF-R1	2,E-02	-8,E-03	4,E-02	HGF	1,E-02	-1,E-02	4,E-02
	ETBR	1,E-02	-1,E-02	4,E-02																								

Tabelle 7-11: Alters-Konfidenzintervalle (KI) in den linearen Regressionsmodellen für Autoantikörper (Ak)-level, Alter und dichotome klinische Manifestationen
Positive Effekte sind in Rot und negative Effekte in Blau markiert.

Klinische Manifestation	Antikörpercluster 1				Antikörpercluster 2				Antikörpercluster 3				Antikörpercluster 4				Antikörpercluster 5				Antikörpercluster 6				Antikörpercluster 7			
	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze	Ak	Effekt	Untere KI-Grenze	Obere KI-Grenze
Creatinkinase	C3AR	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	EGFR	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	M4R	-1,E-04	-1,E-03	9,E-04	AT1R	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	ADRA2	1,E-02	-2,E-01	2,E-01	VEGF-R1	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	PDGF-AA	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04
	C5AR	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	HGFR	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	M3R	-2,E+09	-1,E-03	1,E-03	VEGF-A	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	ADRB1	3,E-03	-2,E-02	2,E-02	CXCR4	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	VEGF-R2	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04
	ETBR	-8,E+09	-1,E-03	1,E-03	PIGF	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	CXCR3	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	ETAR	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	ADRB2	3,E-03	-1,E-02	2,E-02	EGF	-3,E-04	-1,E-03	8,E-04	FGF	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04
	M2R	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04					PAR2	-1,E-04	-1,E-03	9,E-04	ADRA1	4,E-03	-2,E-01	2,E-01	M1R	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04	PAR1	-2,E-04	-1,E-03	8,E-04	HGF	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04
	M5R	-2,E-04	-1,E-03	9,E-04																								
C-reaktives Protein	C3AR	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	EGFR	1,E-01	-9,E-03	2,E-01	M4R	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	AT1R	9,E-02	-2,E-02	2,E-01	ADRA2	2,E+14	-5,E+14	4,E+14	VEGF-R1	1,E-01	-3,E-04	2,E-01	PDGF-AA	1,E-01	-2,E-02	2,E-01
	C5AR	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	HGFR	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	M3R	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	VEGF-A	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	ADRB1	2,E+13	-5,E-01	4,E+14	CXCR4	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	VEGF-R2	1,E-01	-1,E-02	2,E-01
	ETBR	9,E-02	-3,E-02	2,E-01	PIGF	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	CXCR3	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	ETAR	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	ADRB2	1,E+14	-8,E-01	3,E+14	EGF	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	FGF	1,E-01	-2,E-02	2,E-01
	M2R	1,E-01	-1,E-02	2,E-01					PAR2	1,E-01	-2,E-02	2,E-01	ADRA1	-3,E+13	-2,E+14	1,E+14	M1R	1,E-01	-1,E-02	2,E-01	PAR1	1,E-01	-7,E-03	2,E-01	HGF	1,E-01	-2,E-02	2,E-01
	M5R	1,E-01	-2,E-02	2,E-01																								
Erkrankungsdauer	C3AR	7,E-03	-2,E-02	3,E-02	EGFR	6,E-03	-2,E-02	3,E-02	M4R	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	AT1R	2,E+14	-3,E+14	6,E+14	ADRA2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-R1	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	PDGF-AA	9,E-03	-2,E-02	3,E-02
	C5AR	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	HGFR	7,E-03	-2,E-02	3,E-02	M3R	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	VEGF-A	-1,E-01	-6,E-01	4,E-01	ADRB1	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	CXCR4	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	VEGF-R2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02
	ETBR	7,E-03	-2,E-02	3,E-02	PIGF	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	CXCR3	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	ETAR	1,E-01	-3,E-01	6,E-01	ADRB2	9,E-03	-2,E-02	4,E-02	EGF	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	FGF	9,E-03	-2,E-02	3,E-02
	M2R	7,E-03	-2,E-02	3,E-02					PAR2	1,E-02	-2,E-02	4,E-02	ADRA1	8,E-03	-2,E-02	3,E-02	M1R	-2,E-01	-5,E-01	2,E-01	PAR1	6,E-03	-2,E-02	3,E-02	HGF	5,E-03	-2,E-02	3,E-02
	M5R	8,E-03	-2,E-02	4,E-02																								
modified Rodnan skin score (mRSS)	C3AR	-5,E-03	-7,E-02	7,E-02	EGFR	-7,E-03	-8,E-02	6,E-02	M4R	2,E-04	-7,E-02	7,E-02	AT1R	9,E+13	-3,E+13	2,E+13	ADRA2	-2,E-03	-7,E-02	7,E-02	VEGF-R1	-7,E-03	-8,E-02	6,E-02	PDGF-AA	-1,E-02	-8,E-02	6,E-02
	C5AR	-8,E-04	-7,E-02	7,E-02	HGFR	-7,E-03	-8,E-02	6,E-02	M3R	4,E-04	-7,E-02	7,E-02	VEGF-A	2,E+14	7,E-01	3,E+14	ADRB1	-4,E-03	-7,E-02	6,E-02	CXCR4	-1,E-02	-8,E-02	6,E-02	VEGF-R2	-8,E-03	-8,E-02	6,E-02
	ETBR	-3,E-03	-7,E-02	7,E-02	PIGF	-7,E-03	-8,E-02	7,E-02	CXCR3	-1,E-03	-7,E-02	7,E-02	ETAR	8,E-01	-4,E-01	2,E+14	ADRB2	-4,E-03	-7,E-02	7,E-02	EGF	-6,E-03	-8,E-02	6,E-02	FGF	-1,E-02	-8,E-02	6,E-02
	M2R	-9,E-04	-7,E-02	7,E-02					PAR2	-1,E-02	-8,E-02	6,E-02	ADRA1	-8,E-03	-8,E-02	6,E-02	M1R	1,E+13	1,E-01	2,E+14	PAR1	-5,E-03	-8,E-02	7,E-02	HGF	-8,E-03	-8,E-02	6,E-02
	M5R	-6,E-04	-7,E-02	7,E-02																								
N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP)	C3AR	1,E-02	8,E-03	1,E-02	EGFR	1,E-02	7,E-03	1,E-02	M4R	1,E-02	7,E-03	1,E-02	AT1R	8,E-02	-3,E-01	5,E-01	ADRA2	1,E-02	7,E-03	1,E-02	VEGF-R1	1,E-02	8,E-03	1,E-02	PDGF-AA	1,E-02	7,E-03	1,E-02
	C5AR	1,E-02	7,E-03	1,E-02	HGFR	1,E-02	7,E-03	1,E-02	M3R	9,E-03	7,E-03	1,E-02	VEGF-A	2,E-02	-2,E-02	6,E-02	ADRB1	1,E-02	7,E-03	1,E-02	CXCR4	1,E-02	7,E-03	1,E-02	VEGF-R2	1,E-02	7,E-03	1,E-02
	ETBR	1,E-02	7,E-03	1,E-02	PIGF	1,E-02	8,E-03	1,E-02	CXCR3	9,E-03	7,E-03	1,E-02	ETAR	4,E-03	-4,E-02	4,E-02	ADRB2	1,E-02	7,E-03	1,E-02	EGF	1,E-02	8,E-03	1,E-02	FGF	1,E-02	7,E-03	1,E-02
	M2R	1,E-02	7,E-03	1,E-02					PAR2	1,E-02	7,E-03	1,E-02	ADRA1	1,E-02	7,E-03	1,E-02	M1R	3,E-02	2,E-03	7,E-02	PAR1	1,E-02	7,E-03	1,E-02	HGF	9,E-03	7,E-03	1,E-02
	M5R	1,E-02	7,E-03	1,E-02																								

7.6 Korrelationsmuster der Autoantikörpernetzwerke

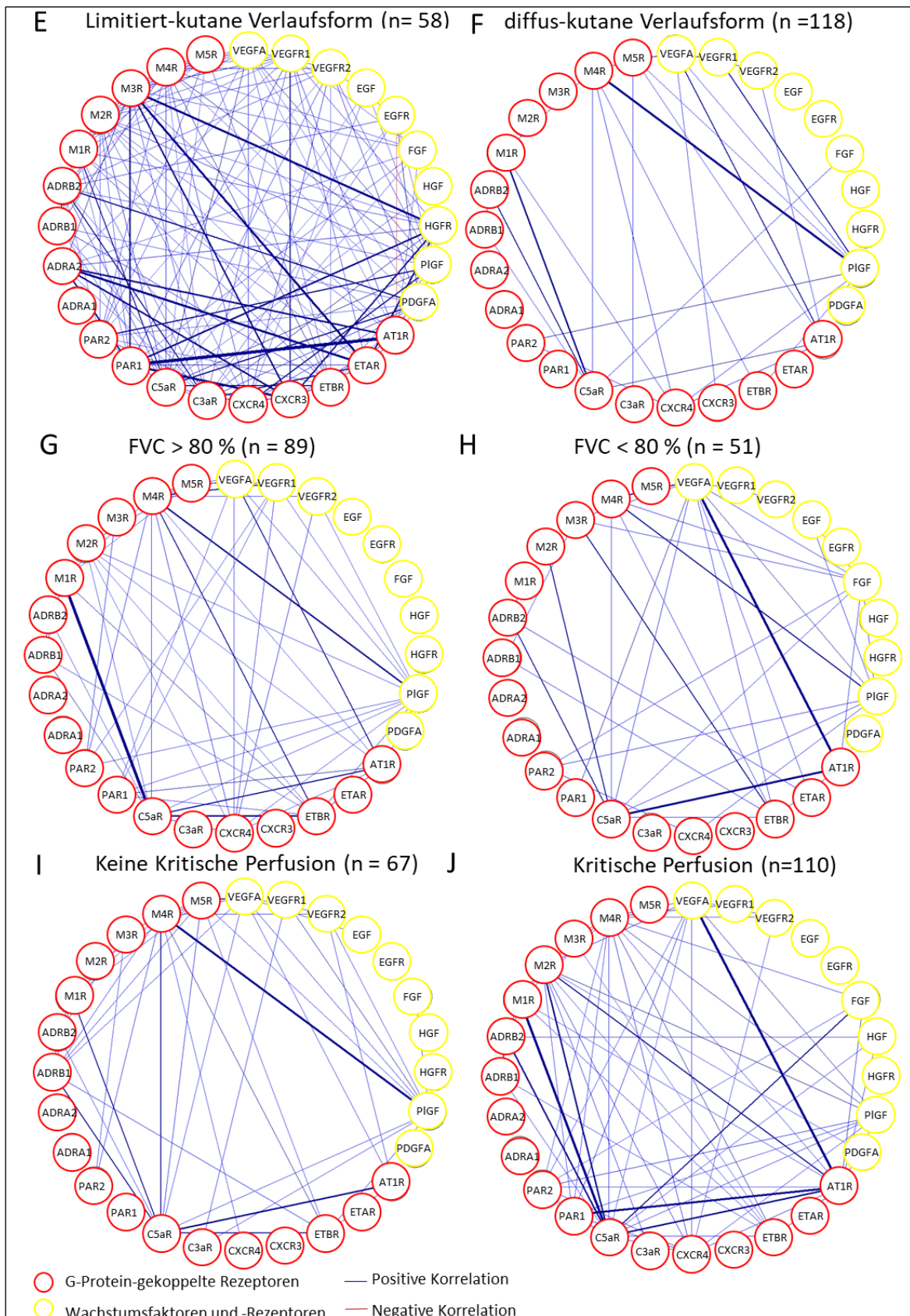


Abbildung 24: Korrelationsmuster von Autoantikörpernetzwerken (2)

Die zirkulären Netzwerke zeigen die nach Bonferroni-Korrektur signifikanten Beziehungen zwischen den Autoantikörpern für unterschiedliche Phänotypen von Patienten mit systemischer Sklerose, basierend auf der Pearson-Korrelationsmatrix. Je dicker die blaue Linie, desto stärker die Korrelation.

7.7 Kooperation mit dem LIED

7.7.1 Verteilung der Autoantikörperwerte

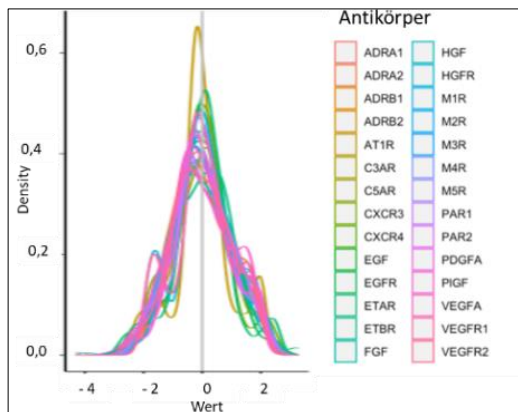


Abbildung 25: Empirische Verteilung der Autoantikörper-Level nach Yeo-Johnson Transformation, Skalierung und Zentrierung
Nach der Datentransformation sind die Autoantikörper-Level von $n = 265$ Probanden ($n = 88$ Gesundkontrollen und $n = 177$ SSc-Patienten) annähernd normalverteilt.

7.7.2 Hierarchische Clusteranalyse

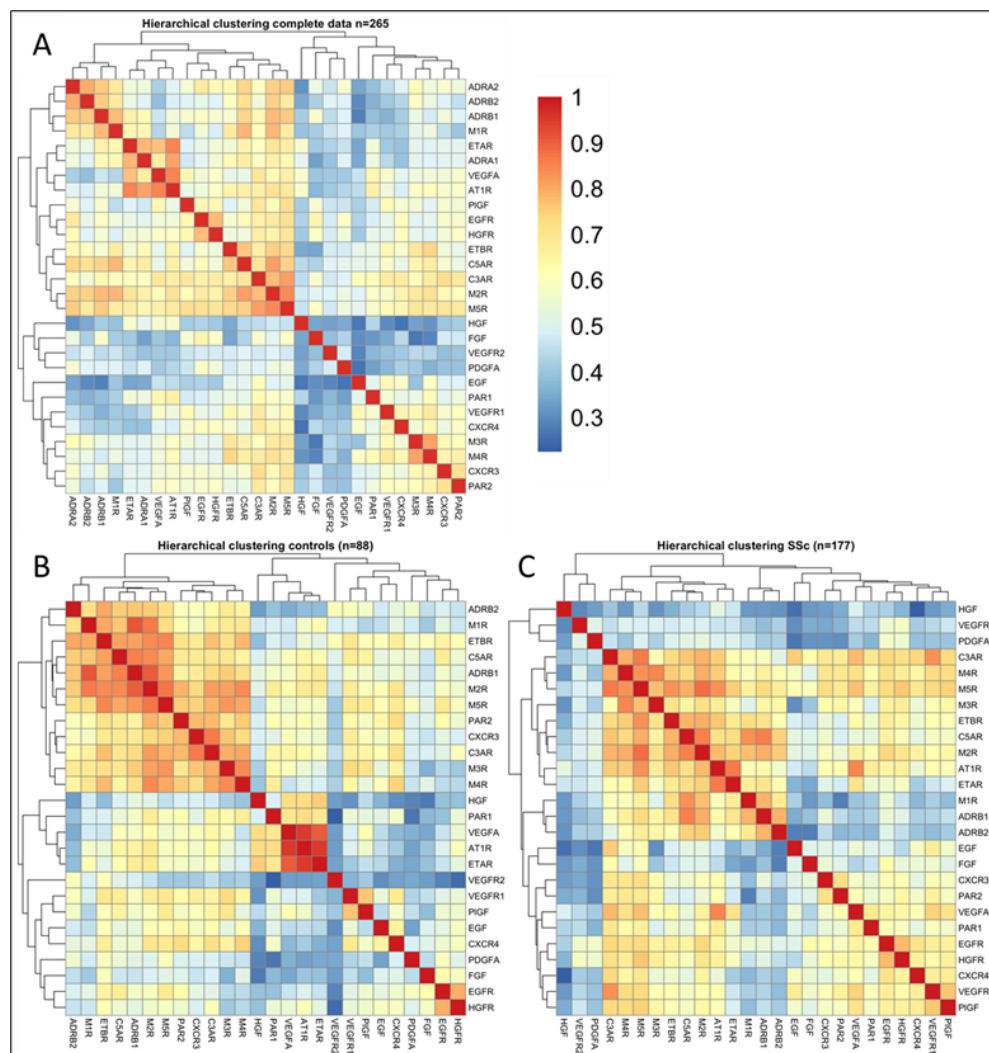


Abbildung 26: Hierarchische Cluster der Autoantikörper-Korrelationssignatur

Die Korrelationsmatrix basierend auf den Pearson-Korrelationen der Yeo-Johnson transformierten, skalierten und zentrierten Autoantikörper-Werte zeigt Cluster der Ak -Korrelationen bei A) $n = 265$ Probanden ($n = 88$ Gesundkontrollen und $n = 177$ Patienten mit systemischer Sklerose), B) $n = 177$ Patienten mit systemischer Sklerose und C) $n = 88$ Gesundkontrollen. In der Heatmap stellt jedes kleine Quadrat die paarweisen Korrelationen zwischen Ak dar. Die Korrelationscluster werden in Dendrogrammen am oberen und seitlichen Rand der Korrelationsmatrix dargestellt

7.7.3 Autoantikörper-Hauptkomponentenanalyse

7.7.3.1 Korrelationen der Autoantikörper und den Hauptkomponenten

Tabelle 7-12: Signifikante Korrelationen zwischen Autoantikörper (Ak)-Leveln und Hauptkomponenten der Ak von systemischen Sklerose-Patienten (n = 177)

PC1	Korre- lation	p- Wert	PC2	Korre- lation	p- Wert	PC3	Korre- lation	p- Wert	PC4	Korre- lation	p- Wert
M5R	0,948	0,000	VEGF-R1	0,395	0,000	HGF	0,530	0,000	VEGF-R2	0,558	0,000
M2R	0,912	0,000	EGF	0,364	0,000	VEGF-A	0,346	0,000	PDGF-AA	0,532	0,000
C3aR	0,898	0,000	CXCR4	0,343	0,000	ADRA1	0,342	0,000	HGFR	0,300	0,000
M4R	0,883	0,000	PAR2	0,333	0,000	ETAR	0,338	0,000	EGFR	0,282	0,000
AT1R	0,872	0,000	PIGF	0,327	0,000	AT1R	0,338	0,000	CXCR3	-0,156	0,038
C5aR	0,867	0,000	FGF	0,314	0,000	PAR1	0,243	0,001	AT1R	-0,165	0,028
ETBR	0,852	0,000	VEGF-A	0,285	0,000	PDGF-AA	0,225	0,003	EGF	-0,229	0,002
EGFR	0,830	0,000	C3aR	0,231	0,002	M4R	-0,149	0,047			
HGFR	0,807	0,000	PAR1	0,228	0,002	EGF	-0,161	0,032			
M3R	0,802	0,000	CXCR3	0,216	0,004	ADRB1	-0,196	0,009			
VEGF-A	0,797	0,000	HGFR	0,165	0,029	FGF	-0,202	0,007			
ETAR	0,790	0,000	EGFR	0,150	0,046	ADRB2	-0,214	0,004			
ADRA2	0,788	0,000	PDGF-AA	-0,172	0,022	CXCR4	-0,214	0,004			
VEGF-R1	0,784	0,000	ETBR	-0,181	0,016	ADRA2	-0,303	0,000			
ADRB1	0,774	0,000	M2R	-0,194	0,010						
PIGF	0,772	0,000	ADRA1	-0,270	0,000						
ADRA1	0,741	0,000	ETAR	-0,276	0,000						
CXCR3	0,738	0,000	C5aR	-0,327	0,000						
CXCR4	0,729	0,000	ADRA2	-0,349	0,000						
M1R	0,722	0,000	ADRB1	-0,469	0,000						
PAR1	0,718	0,000	ADRB2	-0,498	0,000						
PAR2	0,718	0,000	M1R	-0,501	0,000						
ADRB2	0,701	0,000									
EGF	0,632	0,000									
FGF	0,619	0,000									
VEGF-R2	0,590	0,000									
PDGF-AA	0,582	0,000									
HGF	0,493	0,000									

Tabelle 7-13: Signifikante Korrelationen zwischen Autoantikörper (Ak)-Leveln und Hauptkomponenten der Ak von systemischen Sklerose-Patienten mit einem vollständigen Datensatz folgender klinischer Parameter (n = 110): Verlaufsform, Lungenfibrose, Herzbeteiligung, Pulmonal-arterielle Hypertonie, N-terminal pro-brain natriuretic peptide, modified Rodnan skin score, forcierte expiratorische Vitalkapazität und kritische Perfusion

PC1	Korre- lation	p-Wert	PC2	Korre- lation	p-Wert	PC3	Korre- lation	p-Wert	PC4	Korre- lation	p-Wert
M5R	0,947	0,000	PAR2	0,407	0,000	PDGF-AA	0,473	0,000	VEGF-R2	0,618	0,000
M2R	0,923	0,000	EGF	0,368	0,000	HGF	0,428	0,000	PDGF-AA	0,369	0,000
C3AR	0,911	0,000	VEGF-R1	0,360	0,000	ETAR	0,363	0,000	CXCR4	0,279	0,003
M4R	0,908	0,000	CXCR4	0,315	0,001	ADRA1	0,363	0,000	EGFR	0,261	0,006
C5AR	0,889	0,000	PIGF	0,313	0,001	AT1R	0,314	0,001	HGFR	0,205	0,032
AT1R	0,880	0,000	FGF	0,300	0,001	VEGF-A	0,273	0,004	PAR2	-0,190	0,047
ETBR	0,856	0,000	VEGF-A	0,293	0,002	M4R	-0,192	0,045	AT1R	-0,224	0,018
EGFR	0,855	0,000	C3AR	0,247	0,009	ADRB1	-0,212	0,026	ADRA1	-0,239	0,012
M3R	0,842	0,000	PAR1	0,237	0,013	ADRA2	-0,254	0,007			
HGFR	0,839	0,000	ADRA1	-0,232	0,015	ADRB2	-0,311	0,001			
VEGF-A	0,804	0,000	ETAR	-0,285	0,003						
VEGF-R1	0,796	0,000	C5AR	-0,316	0,001						
ETAR	0,782	0,000	ADRA2	-0,408	0,000						
ADRA2	0,777	0,000	ADRB1	-0,477	0,000						
ADRB1	0,772	0,000	M1R	-0,494	0,000						
CXCR3	0,772	0,000	ADRB2	-0,529	0,000						
PIGF	0,771	0,000									
M1R	0,754	0,000									
ADRA1	0,735	0,000									
PAR1	0,734	0,000									
CXCR4	0,708	0,000									
EGF	0,689	0,000									
PAR2	0,686	0,000									
ADRB2	0,648	0,000									
FGF	0,621	0,000									
PDGF-AA	0,576	0,000									
VEGF-R2	0,568	0,000									
HGF	0,484	0,000									

7.7.3.2 Beiträge der Autoantikörper zu den Hauptkomponenten

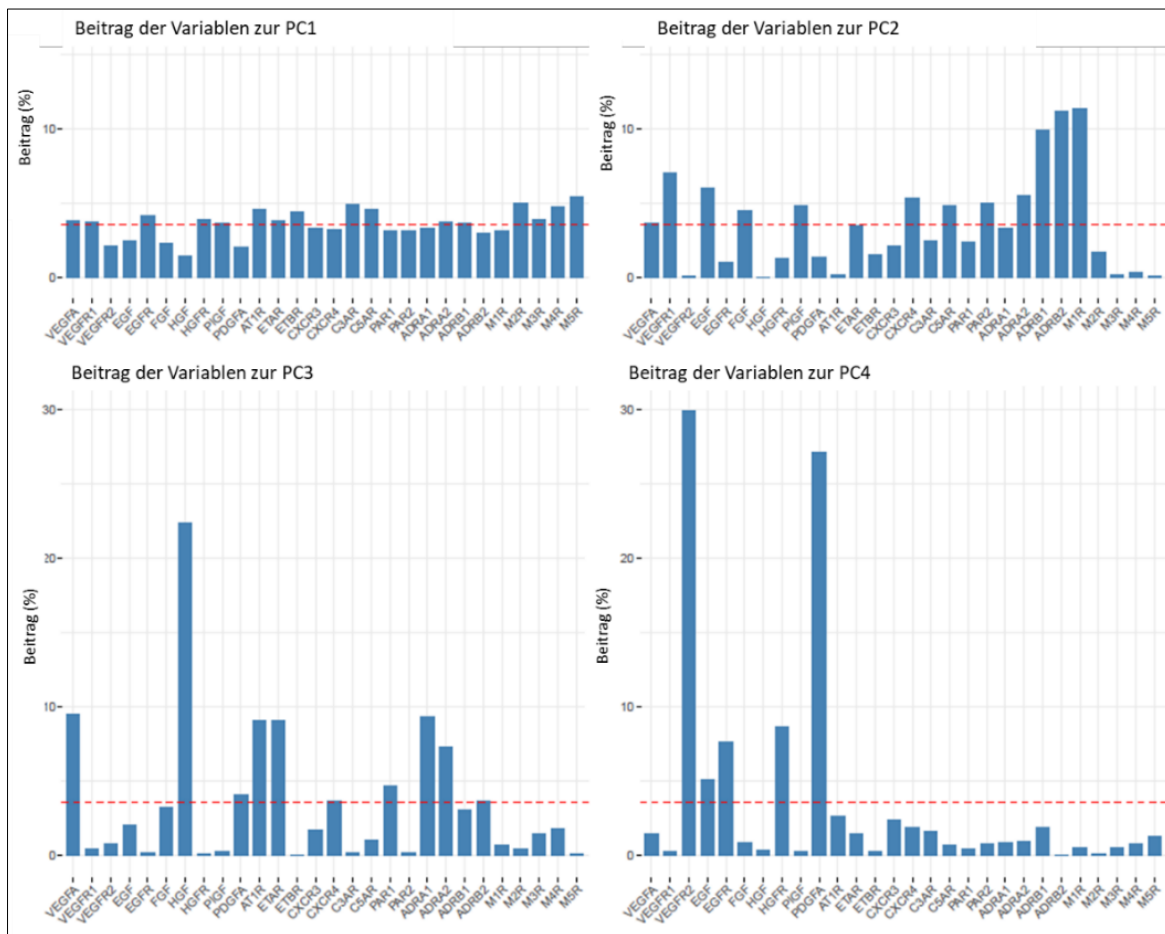


Abbildung 27: Autoantikörper-Beiträge zu den Hauptkomponenten 1-4 (n = 177)

Die Balkendiagramme zeigen, inwiefern die Autoantikörperspiegel von n = 177 Patienten mit systemischer Sklerose zur Ausbildung der Hauptkomponenten 1 bis 4 beitragen. Dabei stellt die Höhe der Balken den prozentualen Beitrag je Autoantikörper dar, die rot gestrichelte Linie markiert den Durchschnitt.

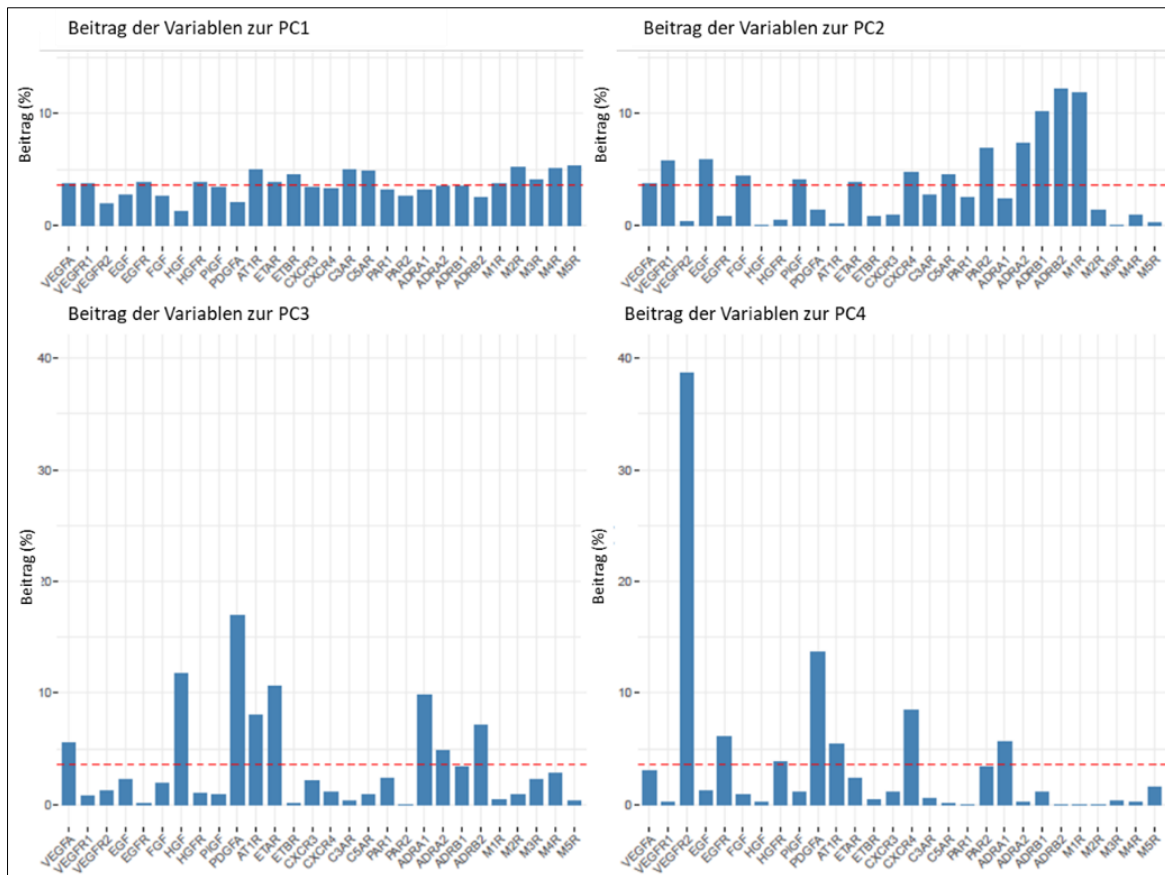


Abbildung 28: Autoantikörper-Beiträge zu den Hauptkomponenten 1-4 (n = 110)

Die Balkendiagramme zeigen, inwiefern die Autoantikörperspiegel von n = 110 Patienten mit systemischer Sklerose zur Ausbildung der Hauptkomponenten 1 bis 4 beitragen. Dabei stellt die Höhe der Balken den prozentualen Beitrag je Autoantikörper dar, die rot gestrichelte Linie markiert den Durchschnitt. In diese Analyse wurden nur die Patienten mit einem vollständigen Datensatz der klinischen Parameter Verlaufsform, Lungenfibrose, Herzbeteiligung Pulmonal-arterielle Hypertonie, N-terminal pro-brain natriuretic peptide, modified Rodnan skin score, forcierte expiratorische Vitalkapazität und kritische Perfusion einbezogen.

7.7.4 Biplots klinischer Manifestationen auf den Hauptkomponenten

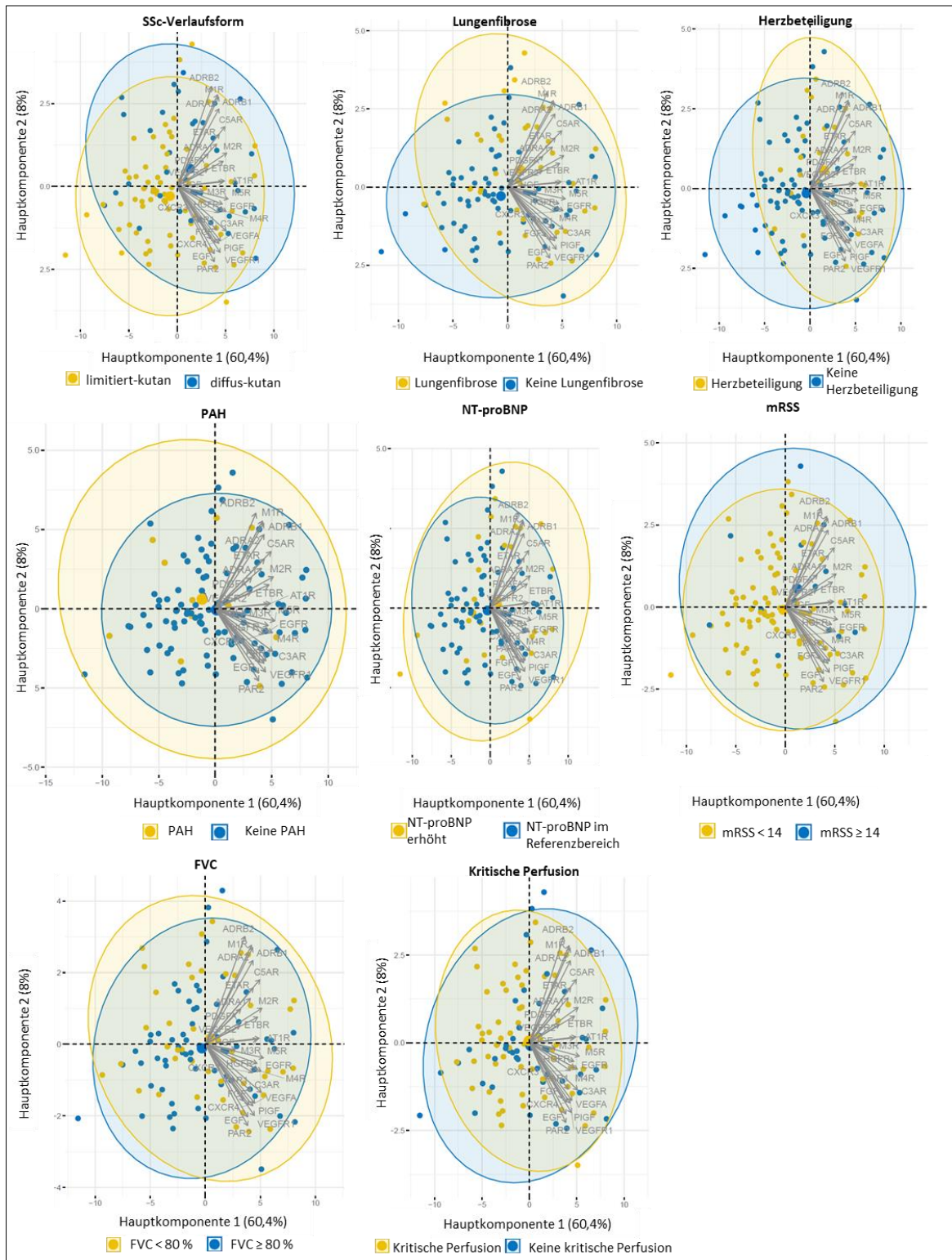


Abbildung 29: Biplots klinischer Parameter auf den Hauptkomponenten (PCs) 1 und 2.

Die Biplots zeigen die Verteilung der Variablen als Vektoren auf die Hauptkomponenten 1 und 2. Die Individuen sind als Punkte projiziert und abhängig von der entsprechenden Manifestation eingefärbt. Anhand der Ellipse ist die Varianz der Manifestationen gezeigt, das Zentrum ist jeweils durch einen größeren entsprechend eingefärbten Punkt markiert.

SSc (Systemische Sklerose) -Verlaufsform, Lungenfibrose und Herzbeteiligung sind positiv auf die PCs 1 und 2 geladen, die Verteilung für PAH (Pulmonal-arterieller Hypertonie), NT-proBNP (N-terminal pro-brain natriuretic peptide) -Erhöhung, mRSS (modified Rodnan skin score) ≥ 14, FVC (forcierte expiratorische Vitalkapazität) < 80 % und kritische Perfusion lässt auf keine Tendenz schließen.

8 Danksagungen

Ohne die Unterstützung zahlreicher Personen und Institutionen hätte meine Dissertation in dieser Form nicht realisiert werden können. Für die vielfältig erfahrene Hilfe möchte ich mich an dieser Stelle sehr herzlich bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Gabriela Riemekasten für die Überlassung des Themas und die Anbindung meiner Person an das Institut. Ihre Expertise im Bereich der GPCR-Autoantikörper und der systemischen Sklerose und die fachliche Förderung waren für mich überaus wertvoll.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Susanne Schinke für die ausgezeichnete Betreuung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit, ihre stets konstruktive Kritik und ihre große Hilfsbereitschaft.

Für das Engagement bei der statistischen Auswertung danke ich sehr Herrn Professor Hauke Busch und Herrn Dr. Axel Künstner vom LIED sowie auch Frau Professor Inke König und Herrn Césaire Fouodo vom IMBS.

Herrn Dr. Harald Heidecke und seinen Mitarbeiter*innen der CellTrend GmbH, Luckenwalde danke ich für die Autoantikörpermessungen.

Außerdem möchte ich mich sehr bei Frau Dr. Antje Müller sowie Frau Dr. Anja Schumann und dem gesamten Team der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie Lübeck bedanken, die meine Arbeit begleitet und durch viele förderliche Gespräche und Empfehlungen sowie ihr organisatorisches Engagement wesentlich dazu beigetragen haben.

Ich danke weiterhin den Patient*innen und Proband*innen, die für diese Studie Blut gespendet haben. Den Mitarbeiter*innen des Blutspendezentrums am Campus Lübeck und der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie, insbesondere Gabriele Marschner, danke ich für Serumentnahmen und die Aufbereitung. Ohne den langfristig angelegten Aufbau und die Pflege einer Lübecker SSc-Serenbank wäre meine Arbeit in diesem Umfang nicht möglich gewesen.

Für die finanzielle Förderung im Rahmen des Promotionsstipendiums Medizininformatik danke ich der Universität zu Lübeck.

Schließlich möchte ich meiner Familie und meinen Freund*innen einen großen Dank für die Unterstützung und Geduld während meines Medizinstudiums und allen Phasen meiner Dissertation aussprechen.

9 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Publikationen/Kongressbeiträge:

- 1) K. Sterner, H. Heidecke, H. Busch, A. Müller, A. Dalmann, G. Riemekasten, S. Schinke, Autoantikörper gegen GPCR, Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktorrezeptoren sind mit Erkrankungsmanifestationen der Systemischen Sklerose assoziiert, German Medical Science GMS Publishing House, 2020: p. DocVK.14.
- 2) K. Sterner, C.J.K. Fouodo, I. König, A. Künstner, H. Busch, H. Heidecke, A. Schumann, A. Müller, G. Riemekasten, S. Schinke, 28 NEW AUTOANTIBODIES AGAINST GPCR, GROWTH FACTORS AND GROWTH FACTOR RECEPTORS ARE ASSOCIATED WITH DISEASE MANIFESTATIONS IN SYSTEMIC SCLEROSIS, Annals of the Rheumatic Diseases. (2021) 149–150.