UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
KLINIK FÜR RHEUMATOLOGIE
UND KLINISCHE IMMUNOLOGIE

Aus der Klinik für Rheumatologie und klinische Immunologie

der Universität zu Lübeck

Direktorin: Prof. Dr. med. Gabriela Riemekasten

Zusammenhänge zwischen Autoantikörpern gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren und Fatigue bei systemischer Sklerose

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von

Sabine Sommerlatte

aus München

Lübeck 2023

1. Berichterstatter*in: Prof. Dr. med. Tanja Lange

2. Berichterstatter*in: Prof. Dr. med. Iakov Shimanovich

Tag der mündlichen Prüfung: 3. November 2023

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 6. November 2023

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Für meine Eltern

Inhalt

1 EINLEITUNG 1

1.1 Systemische Sklerose 1

1.1.1 Epidemiologie und Pathogenese 1

1.1.2 Klinik 2

1.1.3 Verlaufsformen 4

1.1.4 Klassifikationskriterien 5

1.2 Fatigue bei systemischer Sklerose 5

1.2.1 Definition 5

1.2.2 Chronisches Fatigue Syndrom und Abgrenzung zur Fatigue 7

1.2.3 Epidemiologie und Prävalenz 7

1.2.4 Ätiologie 8

1.2.5 Pathophysiologische Modelle 9

1.2.6 Funktionelle Autoantikörper gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren 10

1.2.7 Muskarinrezeptoren und cholinerges System 11

1.2.8 Die Adrenozeptoren β_1 und β_2 und das adrenerge System 12

1.2.9 Muskarinerge und adrenerge Rezeptoren im Kontext von Autoimmunität 13

1.3 Fragestellung und Ziel der Arbeit 14

2 MATERIAL UND METHODEN 15

2.1 Ethikvotum 15

2.2 Studiendesign und Kohorte 15

2.3 Analyse der Blutproben 16

2.3.1 Präanalytik 16

2.3.2 Antikörperbestimmung mittels enzyme-linked immunosorbent assay 16

2.4 Klinische und epidemiologische Charakterisierung 18

2.4.1 Aktenrecherche 18

2.4.2 Anamnesebogen 20
2.5 Psychometrische Charakterisierung 20
2.5.1 Messung der Fatigue 20
2.5.2 Messung der Tagesschläfrigkeit 22
2.5.3 Messung der Schlafqualität 22
2.5.4 Messung des Schmerzes 23
2.5.5 Messung der Depressivität 23
2.5.6 Messung der Angstsymptomatik 23
2.6 Statistik 24
2.6.1 Lageparameter 24
2.6.2 Rangkorrelation nach Spearman 24
2.6.3 Rangsummentest nach Mann-Whitney und Wilcoxon 25
2.6.4 Signifikanzniveau 25
3 ERGEBNISSE 26
3.1 Demographische und klinische Daten 26
3.1.1 Nebendiagnosen und Laborparameter 27
3.1.2 Medikamente 29
3.1.3 Noxengebrauch 29
3.2 Psychometrische Daten 30
3.2.1 Fatigue 30
3.2.2 Schlafqualität 32
3.2.3 Tagesschläfrigkeit 32
3.2.4 Depressivität 32
3.2.5 Angstsymptomatik 32
3.2.6 Schmerz 33
3.2.7 Mit Fatigue assoziierte Variablen 33
3.3 Weitere Assoziationen der Autoantikörper 42

4 DISKUSSION 49
4.1 Zusammensetzung der Kohorte 49
4.2 Prävalenzen zentralnervöser Symptome bei SSc 49
4.2.1 Fatigue 49
4.2.2 Schlafstörungen und Tagesschläfrigkeit 52
4.2.3 Depressivität und Angstsymptomatik 53
4.3 Mit Fatigue assoziierte Variablen 55
4.3.1 Alter und Geschlecht 55
4.3.2 Klinische Manifestationen 56
4.3.3 Schlafstörungen, Tagesschläfrigkeit, Depressivität und Angstsymptomatik 57
4.3.4 Autoantikörper und weitere Immunparameter 57
4.4 Weitere Assoziationen der Autoantikörper 60
4.5 Limitationen 62
4.6 Schlussfolgerung 63
5 ZUSAMMENFASSUNG 64
6 Literaturverzeichnis 65
7 Anhang 82
7.1 Tabellen und Abbildungen 82
7.2 ELISA Datenblätter 95
7.3 Eidesstattliche Erklärung 110
7.4 Ethikvotum 111
8 Danksagung 112
9 Lebenslauf 113

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Raynaud-Syndrom der Hände mit Weißwerden der Finger durch Vasospasmus und nachfolgender Zyanose 2

Abbildung 2 Prinzip des hier durchgeführten enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 18

Abbildung 3 Häufigkeiten der Verlaufsformen der SSc in der untersuchten Kohorte 26

Abbildung 4 Häufigkeiten von Organbeteiligungen und muskuloskelettaler Beteiligung in der untersuchten Kohorte 27

Abbildung 5 Häufigkeiten immunsuppressiver Therapie in der untersuchten Kohorte zum Zeitpunkt der Datenerhebung 29

Abbildung 6 Häufigkeiten erhöhter Fragebogenparameter in der untersuchten Kohorte 31

Abbildung 7 Mittelwerte und Standardabweichungen der fünf Dimensionen der Fatigue gemessen mittels MFI-20 (generelle Fatigue (MFI-20gen), physische Fatigue (MFI-20phys), reduzierte Aktivität (MFI-20act), reduzierte Motivation (MFI-20mot), mentale Fatigue (MFI-20ment)) in der untersuchten Kohorte getrennt nach Geschlecht und Altersgruppen 32

Abbildung 8 Maximaler Schmerz bei Pat. mit muskuloskelettaler (+) und ohne (-) muskuloskelettale Beteiligung in der untersuchten Kohorte 33

Abbildung 9 Spearman Korrelationsanalyse der erhobenen Parameter 34

Abbildung 10 Spearman Korrelationsanalyse der erhobenen Parameter 35

Abbildung 11 Fatigue bei weiblichen (w) und männlichen (m) Pat. in der untersuchten Kohorte gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory ($MFI\text{-}20_{gen}$) 37

Abbildung 12 Fatigue in der untersuchten Kohorte gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI_M) undMultidimensional Fatigue Inventory ($MFI\text{-}20_{gen}$) getrennt nach Altersgruppen 37

Abbildung 13 Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory ($MFI\text{-}20_{gen}$, $MFI\text{-}20_{phys}$) bei Pat. mit Organbeteiligung (+) und solchen ohne (-) 38

Abbildung 14 Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory ($MFI\text{-}20_{gen}$, $MFI\text{-}20_{phys}$) bei Pat. mit muskuloskelettaler (+) und ohne (-) muskuloskelettale Beteiligung 38

Abbildung 15 Korrelation der Fatigue-Fragebögen untereinander 39
Abbildung 16 Korrelation der Fatigue gemessen mittels Brief Fatigue Inventory (BFI_M) mit der Depressivität (PHQ-9), der Angstsymptomatik (GAD-7), der Tagesschläfrigkeit (ESS) und der Schlafqualität (PSQI) sowie dem momentanen (Sch_{mom}), üblichen ($Sch_{übl}$) und maximalen Schmerz (Sch_{max}) 40
Abbildung 17 Korrelation der Thrombozytenzahl mit der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) sowie mit der Tagesschläfrigkeit gemessen mittels Epworth Sleepines Scale (ESS) 41
Abbildung 18 Übersicht der Autoantikörpertiter in der untersuchten Kohorte 42
Abbildung 19 Autoantikörpertiter bei Frauen (w) und Männern (m) in der untersuchten Kohorte 43
Abbildung 20 Autoantikörpertiter der untersuchten Kohorte in der Gruppe der ≤ 39-, 40-59- und ≥ 60-Jährigen 43
Abbildung 21 Autoantikörpertiter bei Pat. mit Organbeteiligung (+) und solchen ohne (-) 43
Abbildung 22 Autoantikörpertiter bei Pat. mit immunsuppressiver Therapie (+) und solchen ohne (-) 44
Abbildung 23 Autoantikörpertiter bei Pat. mit gastrointestinaler Beteiligung (+) und solchen ohne (-) 45
Abbildung 24 Autoantikörpertiter bei Pat. mit dcSSc und lcSSc 45
Abbildung 25 Korrelation von Anti-M1 mit -M2 und von Anti-β_2 mit Anti-M1 und -M2 ... 46
Abbildung 26 Korrelation von Anti-β_2, -M1 und- M2 mit der Lymphozytenzahl und der Creatinkinase (CK) 47
Abbildung 27 Korrelation von Anti-β_2 mit der Hautbeteiligung (modified Rodnan Skin Score, mRSS) 47
Abbildung 28 Lymphozytenzahl bei Pat. mit immunsuppressiver Therapie bzw. Glukokortikoidtherapie (+) und solchen ohne diese Therapien (-) 48
Abbildung 29 Prävalenzen der Fatigue gemessen mittels der Skala der stärksten Ermüdung des Brief Fatigue Inventory (BFI) in der untersuchten SSc-Kohorte, bei Tumorerkrankungen und in der Allgemeinbevölkerung (Valko et al., 2008) und Prävalenzen der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) in der untersuchten SSc-Kohorte und in der Allgemeinbevölkerung (Mendoza et al., 1999) 51

Abbildung 30 Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der generellen Fatigue des MFI-20 in der untersuchten SSc-Kohorte und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003) 51
Abbildung 31 Prävalenzen von schlechtem Schlaf gemessen mittels Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Hinz et al., 2017) und erhöhter Tagesschläfrigkeit gemessen mittels Epworth Sleepiness Scale (ESS) in der untersuchten SSc-Kohorte im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Sander et al., 2016) 53
Abbildung 32 Prävalenz mindestens mittelgradiger depressiver Symptomatik in der untersuchten SSc-Kohorte (PHQ-9 ≥ 10) im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Rief et al., 2004) 54
Abbildung 33 Prävalenz mittelgradiger und schwerer Angstsymptomatik in der untersuchten SSc-Kohorte gemessen mittels GAD-7 im Vergleich zu Pat. mit generalisierter Angststörung (GAD), zu allgemeinmedizinischen Pat. (Primary Care) sowie zur Allgemeinbevölkerung (Löwe et al., 2008) 55
Abbildung 34 Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M), und Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) bei Pat. mit erhöhter (ESS > 10) und nicht erhöhter Tagesschläfrigkeit (ESS ≤ 10) 93
Abbildung 35 Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M), und Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) bei Pat. mit (PSQI > 5) und ohne Schlafstörungen (PSQI ≤ 5) 93
Abbildung 36 Autoantikörpertiter [Units/ml] bei SSc Pat. mit kardialer Beteiligung (+) und ohne (-) kardiale Beteiligung 94
Abbildung 37 Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der physischen Fatigue des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003) 94
Abbildung 38 Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der reduzierten Aktivität des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003) 94
Abbildung 39 Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der reduzierten Motivation des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003) 94

Abbildung 40 Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der mentalen Fatigue des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003) 94

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 ACR-EULAR Klassifikationskriterien 5

Tabelle 2 Präzision des in dieser Studie verwendeten enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA) 18

Tabelle 3 Lageparameter der Fragebogendaten 30

Tabelle 4 Referenzwerte der Laborparameter des Zentrallabors des Instituts für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein 82

Tabelle 5 Funktionsdiagnostische Parameter der SSc-Kohorte 82

Tabelle 6 Medikamenteneinnahme der SSc-Kohorte zum Zeitpunkt der Datenerhebung IV 83

Tabelle 7 Noxengebrauch in der SSc-Kohorte 83

Tabelle 8 Für das Brief Fatigue Inventory (BFI) ermittelte Lageparameter 83

Tabelle 9 Für das MFI-20 ermittelte Lageparameter getrennt nach Alter und Geschlecht 84

Tabelle 10 Korrelation der Fatigue mit dem Alter 85

Tabelle 11 Korrelationen der Fatigue-Fragebögen untereinander 85

Tabelle 12 Korrelationen der erhobenen Fragebogenparameter untereinander 86

Tabelle 13 Korrelationen der Subskalen des Brief Fatigue Inventory (BFI) mit den psychometrischen Fragebogenparametern 87

Tabelle 14 Korrelationen der Skalen des Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) mit den psychometrischen Fragebogenparametern 88

Tabelle 15 Übersicht der p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) 88

Tabelle 16 Korrelationen der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit den Fragbogenparameter 89

Tabelle 17 Korrelation der Thrombozytenzahl (Thro) [$x10_9$/l] mit Fatigue, Depressivität und Tagesschläfrigkeit 90

Tabelle 18 Korrelation der Leukozytenzahl (Leu) und Neutrophilenzahl (Neu) [x10_9/l] mit der physischen Fatigue (MFI-20_{phys}), reduzierten Aktivität (MFI-20_{act}) und reduzierten Motivation (MFI-20_{mot}) 90
Tabelle 19 Korrelation der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) mit Hämoglobin (HB) [g/dl], Leukozytenzahl (Leu), Neutrophilenzahl (Neu) und Lymphozytenzahl (Lym) [x10^9/l] 90
Tabelle 20 Korrelation der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) mit der Hautbeteiligung (modified Rodnan Skin Score, mRSS), dem Body-Mass-Index (BMI) [kg/m^2], der Krankheitsdauer (KD), dem C-reaktiven Protein (CRP) [mg/l], der Creatinkinase (CK) [U/l], der funktionellen Vitalkapazität (FVC) [%], dem Kohlenmonoxid-Transferfaktor (TLCO) [%], dem Troponin T (Trop T) [ng/l], dem N-terminalen B-Typ natriuretischen Peptid (NT-proBNP) [ng/l], der Ejektionsfraktion (EF) [%], dem systolischen pulmonalarteriellen Druck (sPAP) [mmHg], dem Kreatinin (Krea) [µmol/l] und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) 91
Tabelle 21 Lageparameter der Autoantikörpertiter [Units/ml] 91
Tabelle 22 Übersicht der p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests der Autoantikörpertiter [Units/ml] 91
Tabelle 23 Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit dem Alter 91
Tabelle 24 Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] untereinander 92
Tabelle 25 Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit der Lymphozytenzahl (Lym) [x10^9/l] und der Creatinkinase (CK) [U/l] 92
Tabelle 26 Korrelation von Anti-β_2 [Units/ml] mit der Hautbeteiligung 92

Abkürzungsverzeichnis

ACR	*American College of Rheumatology*
AAK	*Autoantikörper*
ACh	*Acetylcholin*
AdR	*Adrenozeptor*
BFI	*Brief Fatigue Inventory*
BMI	*Body-Mass-Index (Körpermasseindex)*
BNP	*B-Typ natriuretisches Peptid*
°C	*Grad Celsius*
CENP	*Centromer-Protein*
CFS	*chronisches Fatigue Syndrom*
CK	*Creatinkinase*
CRP	*C-reaktives Protein*
CT	*Computertomographie*
dcSSc	*diffuse cutaneous systemic sclerosis (diffus kutane systemische Sklerose)*
DSM	*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (diagnostischer und statistischer Leitfaden psychischer Störungen)*
EF	*Ejektionsfraktion*
ELISA	*enzyme-linked immunosorbent assay*
ESS	*Epworth Sleepiness Scale (Epworth-Test zur Tagesschläfrigkeit)*
EULAR	*European League Against Rheumatism*
FSS	*Fatigue Severity Scale*
FVC	*forcierte Vitalkapazität*
GAD	*generalized anxiety disorder (generalisierte Angststörung)*
GFR	*glomeruläre Filtrationsrate*
GPCR	*G-protein coupled receptor (G-Protein-gekoppelter Rezeptor)*
HRP	*horseradish peroxidase (Meerrettichperoxidase)*
5-HT	*5-Hydroxytryptamin, Serotonin*
ILD	*interstitial lung disease (interstitielle Lungenfibrose)*
IQR	*interquartile range (Interquartilsabstand)*
Krea	*Kreatinin*
l	*Liter*

lcSSc ..*limited cutaneous systemic sclerosis (limitiert kutane systemische Sklerose)*

mAChR ……*muskarinerger Acetylcholinrezeptor*

M ……*Mittelwert*

ME ……*myalgische Enzephalomyelitis*

MFI ……*Multidimensional Fatigue Inventory*

µl ……*Mikroliter*

ml ……..*Milliliter*

mRSS ……..*modified Rodnan skin score*

ng ……*Nanogramm*

nm ……*Nanometer*

NRS ……..*numerische Rating-Skala*

OSAS ……*obstruktives Schlafapnoe-Syndrom*

PAH ……..*pulmonal-arterielle Hypertonie*

Pat. ……*Patient*innen*

PHQ ……*Patient Health Questionnaire (Gesundheitsfragebogen für Patient*innen)*

PSQI ……..*Pittsburgh Sleep Quality Index (Pittsburgh Schlafqualitätsindex)*

RA ……*rheumatoide Arthritis*

RNA ……..*ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)*

RNP ……*Ribonukleoprotein*

RUO ……*research use only (nur für Forschungszwecke)*

SD ……..*standard deviation (Standardabweichung)*

Sch_{max} ……*maximaler Schmerz*

Sch_{mom} ……..*momentaner Schmerz*

$Sch_{müb}$ ……..*üblicher Schmerz*

SLE ……..*systemischer Lupus erythematodes*

sPAP …*systolic pulmonary arterial pressure (systolischer pulmonalarterieller Druck)*

SSc ……*systemic sclerosis (systemische Sklerose)*

ssSSc ……*systemc sclerosis sine scleroderma (systemische Sklerose ohne Sklerodermie)*

TLCO ……..*transfer factor of the lung for carbon monoxide (Kohlenmonoxid-Transferfaktor)*

TMB ……*Tetramethylbenzidin*

Trop T ……*Troponin T*

TSH ……*Thyreoidea stimulierendes Hormon*

U ……..*Units*

VC ……*vital capacity (Vitalkapazität)*

ZNS ……*Zentralnervensystem*

1 EINLEITUNG

Das Gefühl starker Müdigkeit hat mit großer Wahrscheinlichkeit jede*r schon erfahren. Nach einem langen Tag oder einer langen Reise verlieren alle anderen Dinge zunehmend an Bedeutung. Man möchte einfach nur schlafen. Diese Müdigkeit ist Teil eines notwendigen Regelkreises, sie signalisiert dem Körper, dass er ruhen soll. Denn Schlaf ist lebenswichtig. Pathologische Müdigkeit jedoch, die sogenannte Fatigue, verschwindet nach dem Schlafen nicht. Sie wird zu einem Dauerzustand, der zu großen Einschränkungen der Lebensqualität und Funktionsfähigkeit führt und eine normale Alltagsführung mitunter unmöglich macht. Fatigue ist ein häufiges Symptom chronischer Erkrankungen im Allgemeinen und von Autoimmunerkrankungen wie der systemischen Sklerose im Speziellen. Für Patient*innen (Pat.) und Behandelnde stellt sie eine große Herausforderung dar, denn obschon sie immer mehr in den Fokus der Forschung rückt, sind die Pathomechanismen weiterhin unzureichend verstanden und nach wie vor stehen keine ausreichenden diagnostischen und therapeutischen Mittel zur Verfügung.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zum besseren Verständnis der Fatigue bei systemischer Sklerose leisten, um potenzielle Biomarker ausfindig zu machen und Therapieansätze zu erarbeiten.

1.1 Systemische Sklerose

1.1.1 Epidemiologie und Pathogenese

Die systemische Sklerose (systemic sclerosis, SSc) ist eine Multisystemerkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis und gehört zur Gruppe der Kollagenosen, also den chronisch-entzündlichen Bindegewebserkrankungen (gesamtes Kapitel: Varga, 2018). Sie tritt, wie für Kollagenosen typisch, bei Frauen deutlich häufiger auf als bei Männern (w : m = 4,6 : 1). Das Maximum der Inzidenz liegt zwischen dem 65. und 74. Lebensjahr. Pathophysiologisch stehen drei Phänomene im Vordergrund:

- obliterierende Mikroangiopathie,
- Autoimmunität und Entzündung sowie
- Fibrose.

1.1.2 Klinik

Als Multisystemerkrankung kann die SSc mit einer Beteiligung praktisch aller Organsysteme einhergehen.

1.1.2.1 Raynaud-Syndrom

Als häufigste extrakutane Manifestation tritt ein sekundäres Raynaud-Syndrom auf. Dabei kommt es zu anfallsartigen Verfärbungen der Finger und Zehen, gelegentlich auch der Nasenspitze und der Ohrläppchen. Typisch ist eine Trikolore mit Weißwerden der Finger durch Vasospasmus, Blaufärbung durch Zyanose und Rötung durch reaktive Hyperperfusion (vgl. Abbildung 1). Auslöser sind insbesondere kalte Temperaturen, aber u. a. auch emotionaler Stress. Bei schweren Verläufen kann es zu digitalen Ulzerationen mit Nekrosen bis hin zum Verlust der Finger kommen.

Abbildung 1
Raynaud-Syndrom der Hände mit Weißwerden der Finger durch Vasospasmus und nachfolgender Zyanose (CC-BY-SA-3.0, User: TCal, Wikimedia Commons) https://cs.wikipedia.org/wiki/Sklerodermie#/media/Soubor:Raynaud_phenomenon.jpg [Zugriff vom 26.12.2021]

1.1.2.2 Hautmanifestationen

Klassisches Kennzeichen der SSc ist eine bilaterale symmetrische Hautverdickung. Die Hautveränderungen verlaufen in drei Stadien Ödem, Induration und Atrophie. Dadurch kommt es zunächst zu geschwollenen Fingern (puffy fingers) und im Verlauf zu einer Sklerodaktylie sowie zu Kontrakturen und Muskelatrophie. Ferner können Ulzerationen und Narben der Fingerspitzen auftreten (pitting scars). Bei Superinfektion droht eine Osteomyelitis. Bei bis zu 40 % der Pat. besteht eine Calcinosis cutis mit Kalkablagerungen insbesondere im Bereich der Extremitäten. Dabei kommt es häufig zu Schmerzen, Nervenkompression und Ulzerationen sowie Sekundärinfektionen. Im Gesicht kommt es zu einer starren Mimik mit maskenhaftem Gesichtsausdruck, zu einer Verkleinerung der Mundöffnung (Mikrostomie)

und zu einem sog. „Tabaksbeutelmund“ durch radiäre Fältelung. Auch Teleangiektasien sowie Hypo- und Hyperpigmentierungen können häufig gesehen werden.

1.1.2.3 Gastrointestinale Beteiligung

Abgesehen von der Hautbeteiligung stellt die gastrointestinale Beteiligung die häufigste Organmanifestation der SSc dar. Sie liegt bei bis zu 90 % der Pat. vor und äußert sich mitunter durch Ösophagusmotilitätsstörung, Magenatonie und Symptome der gastrointestinalen Refluxkrankheit wie Sodbrennen und Dysphagie. Durch Frenulumsklerose kann es zu einer Verkürzung des Zungenbändchens (Skleroglosson) kommen. Zudem kann eine Hypomotilität auch des unteren Gastrointestinaltraktes bestehen. Es kommt zu Malabsorption, Diarrhoe aufgrund bakterieller Fehlbesiedelung und Obstipation bis hin zum Ileus. Außerdem können Blutungen aus Teleangiektasien auftreten.

1.1.2.4 Pulmonale Beteiligung

Zweithäufigste Organbeteiligung ist die pulmonale Beteiligung. Sie trägt wesentlich zur Mortalität bei SSc bei. Hinzuzuzählen sind insbesondere die fibrosierende Alveolitis und interstitielle Lungenfibrose (interstitial lung disease, ILD), die CT-morphologisch bei bis zu 65 % der Pat. nachgewiesen werden kann und in 16-43 % klinisch signifikant auftritt, sowie die pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) (8-12 % der Pat.). Zudem kann es sekundär zu Aspirationspneumonie, Hämoptysen bei endobronchialen Teleangiektasien sowie zu Pleuritiden kommen. Es besteht außerdem eine erhöhte Inzidenz von Lungenkarzinomen.

1.1.2.5 Kardiale Beteiligung

Eine Herzbeteiligung kommt bei 10-50 % der Pat. vor und ist prognostisch ungünstig. Es kommt zu Myokardfibrose mit diastolischer und systolischer Funktionsstörung bis hin zur Herzinsuffizienz sowie zu Fibrose des Reizleitungssystems mit Herzrhythmusstörungen. Des Weiteren kommen Perikarditiden vor. Neben der primären Herzbeteiligung kann sich auch eine sekundäre Herzbeteiligung auf dem Boden einer ILD, PAH oder renalen Beteiligung entwickeln.

1.1.2.6 Renale Beteiligung

Eine renale Krise mit akutem Nierenversagen tritt bei 10-15 % der Pat. auf und ist akut lebensbedrohlich. Pathophysiologisch liegen eine obliterierende Mikroangiopathie und Ge-

fäßverengung mit intravaskulärer Hämolyse, Vasospasmus, Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und nephrogener Hypertonie zugrunde. Eine Therapie mit Glukokortikoiden stellt einen Risikofaktor für das Auftreten einer renalen Krise dar.

1.1.2.7 Muskuloskelettale Beteiligung

Die SSc kann mit einer muskuloskelettalen Beteiligung einhergehen, bei der es zu Arthralgien, Morgensteifigkeit und Arthritiden sowie Myalgien, Myositis, Inaktivitätsatrophie und Karpaltunnelsyndrom kommen kann. Ferner kommt es zu Mobilitätseinschränkungen durch Kontrakturen großer und kleiner Gelenke. Diese gehen oft mit Sehnenreiben einher, welches mit einem erhöhten Risiko für renale und kardiale Komplikationen assoziiert ist. Gelegentlich entwickeln die Pat. eine Polyarthritis der Hände. In manchen Fällen besteht ein Overlap mit einer rheumatoiden Arthritis (RA). Zudem kommt es mitunter zu Akroosteolysen, insbesondere der Endglieder von Fingern und Zehen. Auch Schlüsselbeine und Kiefer können von einer Osteolyse betroffen sein.

1.1.2.8 Beteiligung der Speicheldrüsen

Häufig kommt es durch Fibrose und Atrophie der Speicheldrüsen zu einer Sicca Symptomatik (Xerostomie und Xerophthalmie) im Sinne eines sekundären Sjögren-Syndroms.

1.1.3 Verlaufsformen

Bei der SSc wird zwischen zwei wesentlichen Unterformen differenziert, der diffus kutanen (dcSSc) und der limitiert kutanen Verlaufsform (lcSSc). Die lcSSc zeichnet sich durch Begrenzung der Hautfibrose auf Finger, distale Extremitäten und Gesicht aus, während der Körperstamm ausgespart bleibt. Häufig besteht schon Jahre zuvor ein Raynaud Phänomen. Charakteristisch ist das Vorliegen von Zentromer-Autoantikörpern (AAK), insbesondere gegen das Antigen Centromer Protein B (CENP-B). Neben diesen kommen meist auch solche gegen CENP-A, -C und –D vor (Hartung und Seelig, 2006). Häufig kommt es im Verlauf einer lcSSc zur Entwicklung einer PAH. Eine vorherige Bezeichnung der lcSSc ist das CREST-Syndrom, bestehend aus Calcinosis cutis, Raynaud-Syndrom, Ösophagusbeteiligung, Sklerodaktylie und Teleangiektasien.

Bei der dcSSc kommt es i.d.R. zu einer schnellen Progression der Hautfibrose mit Beteiligung von Fingern, distalen und proximalen Extremitäten sowie Gesicht und Stamm. Häufig geht sie zudem mit einer schweren Lungenfibrose einher. Oft sind Topoisomerase-I-AAK (Scl-70-AAK) sowie RNA-Polymerase-III-AAK nachweisbar.

Als seltene Unterform kann eine sogenannte SSc sine scleroderma vorliegen (ssSSc), bei der sich ein Raynaud Phänomen sowie Organbeteiligungen entwickeln können, eine Hautinduration jedoch ausbleibt. Überdies sind Overlap Syndrome (Mischkollagenosen, mixed connective tissue disease, MCTD) zu nennen, die mit dem Vorkommen von U1-RNP- oder Pm/Scl-AAK assoziiert sind. Die Pat. weisen neben Symptomen einer SSc auch charakteristische Merkmale eines systemischen Lupus erythematodes (SLE), einer Polymyositis oder einer RA auf.

1.1.4 Klassifikationskriterien

Vom American College of Rheumatology (ACR) und der European League Against Rheumatism (EULAR) sind 2013 neue Klassifikationskriterien für die SSc erarbeitet worden. Als Einschlusskriterien sollen sie gewährleisten, dass nur Pat. mit gesicherter Diagnose anhand einheitlicher, standardisierter Kriterien in Studien eingeschlossen werden (vgl. Tabelle 1) (Van Den Hoogen et al., 2013).

Tabelle 1
ACR-EULAR Klassifikationskriterien | Bei einem Score ≥9 wird eine systemische Sklerose (SSc) diagnostiziert
PAH = pulmonal-arterielle Hypertonie | ILD = interstitielle Lungenerkrankung | AAK = Autoantikörper
umgezeichnet nach (Van Den Hoogen et al., 2013, Table 1)

Parameter	Unterparameter	Punkte
Hautverdickung der Finger beider Hände bis proximal der Metakarpophalangealgelenke (hinreichendes Kriterium)		9
Hautverdickung der Finger (nur der höhere Punktwert zählt)	teigige Fingerschwellung	2
	Sklerodaktylie (distal der Metacarpophalangeal- aber proximal der proximalen Interphalangealgelenke)	4
Fingerspitzenläsionen (nur der höhere Punktwert zählt)	Fingerspitzenulzera	2
	eingezogene Fingerspitzennarben	3
Teleangiektasien		2
pathologische Nagelfalzmikroskopie		2
PAH und/oder ILD (max. Punktzahl=2)		2
Raynaud Phänomen		3
SSc-typische AAK (max. Punktzahl=3)	Anti-Zentromer-AAK Anti-Scl-70-AAK Anti-RNA-Polymerase III-AAK	3

1.2 Fatigue bei systemischer Sklerose

1.2.1 Definition

Der im Französischen und Englischen verwendete Terminus Fatigue leitet sich vom lateinischen „Fatigatio“ ab und bedeutet wörtlich übersetzt Müdigkeit, Ermüdung, Erschöpfung

(Deutsche Fatigue Gesellschaft e.V., 2018). Müdigkeit stellt eine „universelle menschliche Erfahrung“ dar und erscheint daher zunächst instinktiv verständlich (Baum et al., 2017).

Bei genauer Betrachtung erweist sich dieser vermeintlich eingängige Begriff jedoch als äußerst komplex, da es sich bei Fatigue um ein subjektives und vielschichtiges Phänomen handelt, welches mindestens vier Dimensionen im Sinne einer emotionalen (Unlust, Motivationsmangel, Traurigkeit), kognitiven (verminderte geistige Leistungsfähigkeit), behavioralen („Leistungsknick“) und körperlichen (z.B. muskuläre Schwäche) Dimension aufweist (Baum et al., 2017).

Von einigen Autor*innen wird in diesem Zusammenhang auch von „peripherer“ und “zentraler Fatigue“ gesprochen, wobei erstere eher der körperlichen Komponente zuzuordnen ist im Sinne eines „ich kann nicht“, letztere eher der emotionalen und motivationalen Komponente im Sinne von „ich will nicht, es lohnt sich nicht“ (Dantzer et al., 2014). Ähnliches spiegelt die Unterscheidung von „somatischer“ und „mentaler“ Erschöpfung wider (Goodchild et al., 2008).

Fatigue stellt uns daher vor ein nicht unerhebliches semantisches Problem und ihre Definition hat sich in der Vergangenheit als schwierig erwiesen (Stebbings und Treharne, 2010). Dennoch lassen sich trotz Mangels einer verbindlichen Falldefinition aus der Literatur gewisse gängige Kernmerkmale ableiten:

> *Die chronische Fatigue im klinischen Sinne kann beschrieben werden als andauernder Zustand ausgeprägter Erschöpfung, welche zur vorangegangenen Anstrengung in keinem angemessenen Verhältnis steht, sich nicht adäquat durch Ruhe bessert und die Arbeits- und Funktionsfähigkeit im Alltag beeinträchtigt (Cella et al., 2001; Dantzer et al., 2014; Kwakkenbos et al., 2015b; Ream und Richardson, 1997).*

Sie ist abzugrenzen von der „normalen“, akuten Fatigue, die in der Regel selbstlimitierend ist, eine erkennbare Ursache wie Überanstrengung oder Schlafmangel hat und sich durch Erholung bessert (Cella et al., 2001; Swain, 2000).

In der Schlafmedizin wird ferner zwischen Müdigkeit bzw. Fatigue und Schläfrigkeit unterschieden. Schläfrigkeit ist u.a. durch eine erhöhte Einschlafneigung, vor allem in einförmigen, reizarmen Situationen, gekennzeichnet sowie durch Reduktion der zentralnervösen Aktivierung. Im Gegensatz dazu ist Fatigue durch eine subjektiv erlebte Verminderung der Leistungsfähigkeit gekennzeichnet, ohne dass ungewollte Tagschlafepisoden auftreten

(Weeß, 2013). Zur Objektivierung der Schläfrigkeit können apparative Verfahren wie der Multiple Schlaflatenztest (MSLT) und der Multiple Wachbleibetest (MWT) herangezogen werden (Wise, 2006). Zudem werden auch Fragebögen wie die Epworth Sleepiness Scale (ESS) und Stanford Sleepiness Scale (SSS) zur Einschätzung der Tagesschläfrigkeit verwendet (Weeß, 2013).

1.2.2 Chronisches Fatigue Syndrom und Abgrenzung zur Fatigue

Prinzipiell abzugrenzen von Fatigue bei SSc ist die myalgische Enzephalomyelitis/das chronische Fatigue Syndrom (ME/CFS). Zwar stellt Fatigue auch hier das Leitsymptom dar, bei ME/CFS handelt es sich jedoch um eine eigenständige Krankheitsentität, bei der eine (chronisch-entzündliche) Grunderkrankung ausgeschlossen wurde, und die sich mitunter durch eine Trias aus Fatigue, neurokognitiven (z.B. Konzentrationsstörungen) und immunologischen (z.B. subfebrile Temperaturen) Symptomen auszeichnet. Typisch sind ebenfalls der nicht erholsame Schlaf und die sogenannte postexertionelle Malaise. Letztere beschreibt eine nach Anstrengung auftretende Zustandsverschlechterung, welche verzögert auftreten und über mehrere Tage anhalten kann (Nacul et al., 2021; Scheibenbogen et al., 2014).

1.2.3 Epidemiologie und Prävalenz

Laut einer demoskopischen Untersuchung berichten in Deutschland 31 % der über 16-Jährigen „manchmal oder häufig unter Ermüdungserscheinungen zu leiden“. Die Prävalenz ist bei Frauen höher als bei Männern und bei Menschen mit höherem sozioökonomischem Status geringer als bei solchen mit niedrigem (Baum et al., 2017). Insgesamt ist die Prävalenz der Fatigue bei SSc deutlich höher als in der Normalbevölkerung und vergleichbar mit der bei anderen rheumatischen Erkrankungen wie der RA oder dem SLE (Basta et al., 2018). Die Zahlen variieren in der Literatur jedoch und werden für die SSc mit bis zu 89 % angegeben. In einer großen international angelegten Studie lag die Prävalenz bei 48 % (Basta et al., 2018). Zudem erwies sich Fatigue als eines der häufigsten und belastendsten Symptome bei SSc (Bassel et al., 2011; Sandusky et al., 2009). Darüber hinaus spielt Fatigue eine wichtige Rolle bei der Reduktion der Funktions- und Arbeitsfähigkeit und der Entwicklung von Erwerbsunfähigkeit. Sie hat somit auch weitreichende psychosoziale und sozioökonomische Folgen (Basta et al., 2018).

1.2.4 Ätiologie

Bei der Differentialdiagnose der Fatigue sind im Allgemeinen folgende Faktoren zu berücksichtigen (Baum et al., 2017; Scheibenbogen et al., 2014):

- ME/CFS
- somatische Erkrankungen:
    - Anämie
    - Autoimmunerkrankung
    - Diabetes mellitus
    - Herzinsuffizienz
    - Infektionskrankheiten
    - Kaliummangel/Elektrolytstörungen
    - Lungenerkrankungen/chronic obstructive pulmonary disease, COPD
    - Malignome
    - Schilddrüsenfehlfunktionen
    - Schlafstörungen/obstructive sleep apnea syndrome, OSAS
    - Mangelernährung
- Medikamente:
    - Antidepressiva
    - Antihistaminika
    - Antihypertensiva (insbesondere Betablocker)
    - Benzodiazepine
    - Neuroleptika
    - Opiate
    - Parkinsonmittel
- Psychiatrische Erkrankungen:
    - Angststörungen
    - Depression
    - somatoforme Störungen
    - Abhängigkeitserkrankungen: insbesondere Alkohol
- Über- oder Untergewicht (gemessen am Body-Mass-Index, BMI)
- Umweltgifte.

Zudem haben sich folgende Faktoren als Korrelate der Fatigue bei SSc erwiesen (Basta et al., 2018; Sandusky et al., 2009):

- Schmerz
- Depression
- Angststörungen
- schlechter Schlaf/Schlafstörungen
- niedriges körperliches Funktionsniveau
- geringe soziale Netzwerkgröße und -diversität
- gastrointestinale Beteiligung
- schlechte Coping Skills
- Gelenkbeteiligung
- weibliches Geschlecht
- pulmonale Beteiligung
- Nachweis von U1-RNP-AAK
- Rauchen
- Atemprobleme
- Die Diffusionskapazität (transfer factor of the lung for carbon monoxide, TLCO) hat sich zudem als Prädiktor für eine Zunahme der Fatigue erwiesen.

1.2.5 Pathophysiologische Modelle

1.2.5.1 Fatigue und Krankheitsverhalten

Einen zentralen pathophysiologischen Erklärungsansatz zum Verständnis der Fatigue bei Autoimmunerkrankungen stellt das Modell des Krankheitsverhaltens (Sickness Behavior) dar. Es beschreibt Symptome, die normalerweise bei Immunaktivierung im Rahmen von Infektionskrankheiten, aber auch Autoimmun- oder Krebserkrankungen auftreten können. Die Symptome ähneln denen einer Depression (u.a. Anhedonie, Appetitlosigkeit, psychomotorische Verlangsamung, sozialer Rückzug, erhöhte Schmerzempfindlichkeit) und beinhalten insbesondere auch Fatigue und Schläfrigkeit. Es handelt sich letztlich um ein Schonverhalten als Adaptation des Körpers an die erhöhten Anforderungen im Rahmen der Erkrankung. Vermittelt wird dies durch proinflammatorische Zytokine (Besedovsky et al., 2019; Schubert, 2011). Auch für Fatigue ist ein Zusammenhang mit Zytokinen wie Interleukin-6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor (TNF) sowie Interferon-α (IFN-α) und -γ beschrieben

worden. Als ursächlich für die Entwicklung von Fatigue und Depression gilt der Einfluss der Entzündung auf das Gehirn im Sinne einer Neuroinflammation und auf den zentralen Neurotransmitterstoffwechsel, insbesondere der Monoamine Dopamin, Noradrenalin und Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) (Dantzer et al., 2014; Thombs et al., 2009).

1.2.5.2 Fatigue und Autoantikörper

Als immunologisches Phänomen zur Erklärung von Fatigue sind durch neuere Studien auch AAK in den Fokus des Interesses gerückt. Denn bei Pat. mit ME/CFS fanden sich AAK gegen bestimmte G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (G-protein coupled receptors, GPCR), nämlich den β_2-Adrenozeptor (β_2-AdR) sowie die muskarinergen Acetylcholinrezeptoren (Muskarinrezeptoren, mAChR) M3 und M4 (Loebel et al., 2016). AAK gegen M1, M2, M5 (Anti-M1, Anti-M2, Anti-M5), β1- und α-adrenerge, Dopamin- und Serotoninrezeptoren zeigten sich hingegen nicht verändert (Loebel et al., 2016). Zudem konnte gezeigt werden, dass AAK gegen den β_2-AdR (Anti-β_2) von Gesunden tatsächlich in der Lage sind, den β_2-AdR zu aktivieren, während dies bei AAK von ME/CFS Pat. nicht bzw. nur deutlich schwächer der Fall ist (Hartwig et al., 2020).

Eine weitere Studie konnte außerdem eine Korrelation zwischen Fatigue und Anti-M4 bei ME/CFS Pat. mit Infekt-getriggertem Krankheitsbeginn zeigen (Freitag et al., 2021). Zudem führten eine B-Zell-depletierende Therapie mit Rituximab sowie eine Entfernung von Antikörpern mittels Immunadsorption zu einer signifikanten klinischen Besserung der Fatiguesymptomatik bei einem Teil der ME/CFS Pat. (Fluge et al., 2015; Scheibenbogen et al., 2018).

1.2.6 Funktionelle Autoantikörper gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

GPCR sind heptahelikale Transmembranrezeptoren mit verschiedenen an der Signaltransduktion beteiligten G-Proteinen (z.B. $G_{q/11}$, $G_{i/o}$, G_s). Sie stellen die größte Familie der Signalproteine im menschlichen Körper dar und kommen ubiquitär vor. Dies bedingt eine enorme pathophysiologische Bedeutsamkeit und macht sie zu attraktiven pharmakologischen Therapiezielen (Bockaert und Pin, 1999; Garland, 2013; Geppetti et al., 2015; Kruse et al., 2014).

AAK sind humorale Bestandteile des adaptiven Immunsystems, die sich gegen körpereigene Antigene richten. Als sogenannte natürliche AAK kommen sie in geringen Konzentrationen auch bei Gesunden vor und sind dann nicht pathologisch (Gleicher et al., 2007;

Günther et al., 2015; Tomer und Schoenfeld, 1988). Als pathogene AAK hingegen sind sie ein wichtiges Merkmal von Autoimmunerkrankungen wie der SSc (Mehra et al., 2013; Weigold et al., 2018). Bedeutsam sind in diesem Zusammenhang die sogenannten funktionellen AAK, die sich nicht nur gegen ihr Zielantigen richten und zu dessen Destruktion führen, sondern endogene Rezeptoren wie die GPCR binden und gleichsam dem Liganden Signalkaskaden im Körper auslösen oder die Wirkung des Liganden beeinflussen. Somit können sie agonistisch, antagonistisch oder synergistisch wirken (Günther et al., 2015). Dies geschieht zum Beispiel im Falle des Morbus Basedow, bei dem AAK den Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH)-Rezeptor binden und eine Hyperthyreose auslösen (Gleicher et al., 2007). Es gibt zudem Hinweise, dass funktionelle AAK gegen GPCR ein regulatorisches Netzwerk bilden, welches bei vielen Erkrankungen gestört zu sein scheint (Cabral-Marques et al., 2018). Bei der SSc haben sich funktionelle AAK gegen GPCR ebenfalls als pathogenetisch bedeutsam erwiesen (Cabral-Marques und Riemekasten, 2017; Günther et al., 2015).

1.2.7 Muskarinrezeptoren und cholinerges System

Muskarinrezeptoren (mAChR) gehören zur Familie der GPCR. Es existieren fünf bekannte Subtypen: M1-M5. Der natürliche Ligand ist Acetylcholin (ACh) (Cabral-Marques und Riemekasten, 2017). M1, M3 und M5 binden $G_{q/11}$, während M2 und M4 bevorzugt $G_{i/o}$ binden (Kruse et al., 2014). MAChR sind weit verbreitet im zentralen und peripheren Nervensystem (ZNS/PNS) sowie in exokrinen Drüsen und der glatten Muskulatur peripherer Organsysteme, wo sie je nach Ligand parasympathomimetische oder parasympatholytische Wirkungen vermitteln (Nathanson, 2000). M1, M4 und M5 finden sich dabei vor allem im ZNS, während M2 und M3 sowohl im ZNS, als auch in peripheren Geweben weit verbreitet sind (Wess et al., 2007). Zudem ist bekannt, dass auch Immunzellen mAChR exprimieren und ACh selbst produzieren. Sie bilden das sogenannte „nicht-neuronale cholinerge System“, welches u.a. bei der Regulation von Entzündungsprozessen eine Rolle spielt (Kawashima und Fujii, 2004; Milara et al., 2016; Razani-Boroujerdi et al., 2008; Wessler und Kirkpatrick, 2008).

Im ZNS spielt das cholinerge System eine wichtige Rolle bei der Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus. ACh fördert dabei über mAChR u.a. jene kortikale Aktivität, die mit Wachheit und REM-Schlaf assoziiert ist. Zudem wird den mAChR eine wichtige Rolle bei kognitiven Funktionen wie Lernen und Gedächtnis zugeschrieben (Wess et al., 2007). Eine Studie von Tanaka et al. konnte überdies zeigen, dass zentrale bzw. mentale Fatigue (im Sinne einer

Unfähigkeit mentale Aufgaben, die Motivation oder mentale Anstrengung erfordern, auszuführen, hier induziert durch den 2-back-Test und gemessen anhand des Advanced Trail Making Tests (ATMT)), mit verminderter Vagusaktivität und erhöhter Sympathikusaktivität assoziiert ist (Tanaka et al., 2009). Auch existieren in der Literatur zahlreiche Hinweise auf eine wichtige Rolle des cholinergen Systems für die Pathophysiologie des ME/CFS. So hatten sich beispielsweise erhöhte relative Cholin-Level (gemessen als Cholin-Kreatinin-Ratio mittels Protonen-Magnet-Resonanz-Spektroskopie) im okzipitalen Kortex von ME/CFS Pat. gezeigt und eine Hochregulation zentraler postsynaptischer ACh-Rezeptoren wird im Zusammenhang mit neurokognitiven Symptomen bei ME/CFS (u.a. Fatigue und Schlafstörungen) diskutiert (Chaudhuri et al., 1997; Puri et al., 2002). Auch zeigte sich bei Pat. mit ME/CFS im Vergleich zu Gesunden eine verminderte Parasympathikusaktivität (ermittelt anhand von Blutdruck und Herzratenvariabilität in der Polysomnographie) während des Tiefschlafs, was im Zusammenhang mit dem häufig von ME/CFS-Pat. berichteten unerholsamen Schlaf diskutiert wird (Orjatsalo et al., 2018). Zudem konnte bei Pat. mit ME/CFS eine erhöhte endotheliale Sensitivität gegenüber ACh gezeigt werden (Spence et al., 2004).

1.2.8 Die Adrenozeptoren β_1 und β_2 und das adrenerge System

Die Adrenozeptoren β_1 und β_2 (β_1-AdR, β_2-AdR) gehören wie die mAChR zur großen Superfamilie der GPCR. Die Signaltransduktion erfolgt vorwiegend über das stimulierende G_s-Protein. Natürliche Liganden sind Adrenalin sowie Noradrenalin. Letzteres weist jedoch eine wesentlich geringere Affinität zum β_2-AdR auf. Die β_1- und β_2-AdR vermitteln sympathomimetische Wirkungen und sind Teil der sog. „fight-or-flight response“. Die Aktivierung des β_2-AdR in der glatten Muskulatur peripherer Gewebe wirkt relaxierend und vermittelt so beispielsweise eine Broncho- und Gefäßdilatation (Bylund et al., 1994; Scanzano und Cosentino, 2015). Auch lymphatische Organe und Immunzellen, wie z.B. Neutrophile, T- und B- Zellen, exprimieren den β_2-AdR (Jetschmann et al., 1997; Kenney und Ganta, 2014; Nakai und Suzuki, 2019; Sanders und Straub, 2002; Scanzano und Cosentino, 2015). Hier übt er eine immunmodulatorische Funktion aus und beeinflusst u.a. die Freisetzung verschiedener Zytokine sowie die Zellzahl und Funktionalität von Immunzellen (Elenkov et al., 2000; Sanders und Straub, 2002). Im Falle der adrenergen Leukozytose induziert Stress beispielsweise über die Aktivierung des β_2-AdR durch Adrenalin eine Loslösung von Immun-

zellen von der Gefäßwand und bewirkt so einen Anstieg der Leukozytenzahl im menschlichen Blut (Benschop et al., 1996; Dimitrov et al., 2010). Im ZNS ist Noradrenalin involviert in die Regulierung des Schlaf-Wach-Rhythmus (Brown et al., 2012; Steriade et al., 1993).

Zentrale Fatigue scheint mit erhöhter Sympathikusaktivität und verminderter Vagusaktivität einherzugehen (Tanaka et al., 2009). Bei ME/CFS wird häufig eine sympathische Prädominanz beschrieben und eine Dysfunktion des sympathischen Systems sowie des β_2-AdR werden als für die Pathogenese des ME/CFS wichtige Faktoren diskutiert (Martínez-Martínez et al., 2014). Beispielsweise zeigten ME/CFS Pat. eine verminderte Sensitivität gegenüber β-adrenerger Regulation, bei gleichzeitig erhöhten basalen Adrenalinwerten (Kavelaars et al., 2000). Betablocker werden bezüglich ihrer Wirksamkeit bei psychiatrischen Erkrankungen wie Angststörungen und posttraumatischer Belastungsstörung (PTBS) erforscht, da dem adrenergen System eine Rolle bei der Konsolidierung des Angstgedächtnisses zugeschrieben wird (AlOkda et al., 2019).

1.2.9 Muskarinerge und adrenerge Rezeptoren im Kontext von Autoimmunität

Eine der frühesten Beschreibungen von AAK gegen GPCR erfolgte 1980 durch Craig Venter und betraf den β_2-AdR. Eine mögliche Rolle von AAK gegen den β_2-AdR (Anti-β_2) wird insbesondere bei der Pathogenese des Asthma bronchiale diskutiert (Cabral-Marques und Riemekasten, 2017; Mukherjee und Nair, 2018; Venter et al., 1980). AAK gegen den β_1-AdR werden aufgrund dessen prädominanter Rolle für die Herzfunktion insbesondere mit der Entwicklung verschiedener Herzerkrankungen in Verbindung gebracht, darunter Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz sowie bestimmte Herzrhythmusstörungen (Cabral-Marques und Riemekasten, 2017; Jahns et al., 1999; Yu et al., 2009). Bei der Chagas-Krankheit wird eine Bedeutung von AAK sowohl gegen den β_1-AdR, als auch gegen M2 bezüglich der Manifestation einer Kardiomyopathie diskutiert (Soares et al., 2001; Talvani et al., 2006). AAK gegen diese beiden Rezeptoren fanden sich auch beim Morbus Basedow und scheinen die Entwicklung von Vorhofflimmern bei diesen Pat. zu begünstigen (Li et al., 2016; Stavrakis et al., 2009).

AAK gegen mAChR werden ferner mit psychiatrischen Symptomen bei Morbus Alzheimer sowie mit bestimmten Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht. Beispielsweise fanden sich AAK gegen M1 beim Lambert-Eaton-Syndrom und AAK gegen M3 bei Pat. mit Sjögren-Syndrom (Cabral-Marques und Riemekasten, 2017; Giil et al., 2018; Takamori et

al., 2007). Wie bereits unter 1.2.5.2 erläutert, sind AAK gegen M3 und M4 sowie den β_2-AdR bei ME/CFS beschrieben worden und es fanden sich Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen diesen AAK und Fatigue bei einem Teil der Pat. (Freitag et al., 2021; Loebel et al., 2016). Bei SSc zeigten bisherige publizierte Daten reduzierte AAK-Titer gegen M2 und M4 im Vergleich zu Gesunden (Cabral-Marques et al., 2018). Neueste Untersuchungen ließen zudem erhöhte AAK-Titer gegen den β_1- und β_2-AdR und gegen M1, M2 und M5 sowie reduzierte AAK-Titer gegen M4 erkennen (Sterner, 2022).

1.3 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Die Pathophysiologie der Fatigue bei SSc ist bislang nicht vollständig verstanden. Bei Pat. mit ME/CFS, dessen Leitsymptom Fatigue ist, sind jedoch AAK gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren beschrieben worden und diese korrelierten mit der Fatigue bei einem Teil der Patient*innen. Bei SSc stellen Autoimmunphänomene eine pathophysiologische Hauptsäule dar und AAK-Konzentrationen gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren zeigten sich ebenfalls verändert im Vergleich zu Gesunden. Über den Zusammenhang zwischen diesen AAK und Fatigue bei SSc ist unseres Wissens bislang jedoch nichts bekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, anhand einer Korrelationsstudie den Zusammenhang zwischen Fatigue und Konzentration der AAK gegen M1-M5 sowie den β_2-AdR bei Pat. mit SSc zu untersuchen. Wir nehmen an, dass Immunphänomene für die Pathogenese der Fatigue bei SSc von Bedeutung sind und gehen von der Hypothese aus, dass AAK-Titer gegen M1-M5 und den β_2-AdR mit Fatigue bei SSc assoziiert sind.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Ethikvotum

Ein positives Votum der Ethikkommission der Universität zu Lübeck (Aktenzeichen: 16-199) wurde eingeholt (vgl. 7.4 im Anhang).

2.2 Studiendesign und Kohorte

Die vorliegende Studie wurde als Querschnittstudie angelegt. Die Datenerhebung erfolgte zwischen 2016 und Januar 2018.

Die Pat. wurden in der Ambulanz sowie auf der Station der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein in Lübeck rekrutiert. Einschlusskriterien waren das Vorliegen einer bekannten oder neu diagnostizierten SSc sowie ein stationärer oder ambulanter Aufenthalt in der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein im o.g. Erhebungszeitraum. Ausschlusskriterien waren fehlende Einwilligungsfähigkeit und fehlende Fähigkeit zum Ausfüllen der Fragebögen. Die schriftliche Einwilligung wurde nach mündlicher und schriftlicher Aufklärung mittels standardisiertem Aufklärungsbogen eingeholt.

Anschließend wurden die Teilnehmenden mittels 9 verschiedener Selbsteinschätzungsfragebögen psychometrisch sowie zusätzlich mittels Aktenrecherche und Anamnesebogen bezüglich relevanter klinischer und therapeutischer Parameter charakterisiert. Folgende Fragebögen waren auszufüllen:

- Anamnesebogen
- Fatigue Severity Scale (FSS)
- Brief Fatigue Inventory (BFI)
- Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20)
- Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9)
- Generalized Anxiety Disorder 7 (GAD-7)
- Schmerzfragebogen
- Epworth Sleepiness Scale (ESS)
- Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI)

Parallel erfolgte die Bestimmung der AAK-Titer gegen M1-M5 und den β_2-AdR mittels enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) aus Serumproben der Teilnehmenden. Die Fragebogenerhebung und die Blutentnahme für die AAK-Bestimmung erfolgten idealerweise am selben Tag bzw. während desselben stationären Aufenthalts. Bei 11 Pat. differierten die Zeitpunkte zwischen Blutentnahme für die AAK-Bestimmung und Fragebogenerhebung jedoch. Der mittlere Zeitabstand betrug 10 ± 7 Wochen (min. 3 bis max. 23 Wochen). Anschließend wurden die erhobenen Parameter statistisch analysiert.

2.3 Analyse der Blutproben

2.3.1 Präanalytik

Die entsprechenden Blutproben wurden im Rahmen des Aufnahmelabors während eines ambulanten oder stationären Aufenthalts der jeweiligen Pat. mit Serumröhrchen (Sarstedt) gewonnen. Die Seren wurden am selben Tag zentrifugiert, bei -80 °C eingefroren und im Verlauf an die Firma CellTrend versendet. In einer Studie, die mittels des auch hier verwendeten ELISA AAK-Titer gegen 33 verschiedene Antigene (inklusive β_2-AdR sowie M1-M5) untersucht hat, zeigte sich kein Einfluss der Lagerungszeit auf die AAK-Titer (Giil et al., 2017).

2.3.2 Antikörperbestimmung mittels enzyme-linked immunosorbent assay

Die quantitative Bestimmung der AAK-Titer erfolgte aus Serumproben mittels ELISA über die Firma CellTrend in Luckenwalde. Die zugehörigen Datenblätter sind über die Homepage der Firma abrufbar und finden sich zudem unter 7.2 im Anhang (CellTrend, 2022b). Es existieren verschiedene ELISA-Methoden. Gemeinsames Prinzip ist der Nachweis einer Substanz mithilfe von Antikörpern, an welche ein Enzym konjugiert ist. Nach Zugabe des entsprechenden Substrats wird eine enzymatische Farbreaktion katalysiert, deren Produkt mittels Kolorimetrie (Farbumschlag), Fluoreszenz oder Chemilumineszenz quantifiziert werden kann.

Die Firma CellTrend bietet kommerzielle Assays an, für die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten sowie Cutoff-Werte für bestimmte Erkrankungen angegeben werden. Bei einigen erfolgte die Zulassung als in-vitro Diagnostikum (CE-IvD), u.a. für erhöhte Angiotensin II-Typ 1-Rezeptor-AAK als Hinweis auf eine Nierentransplantatabstoßungsreaktion (Lefaucheur et al., 2019; Reinsmoen et al., 2010). Bei den ELISAs zur Bestimmung der in dieser Arbeit untersuchten AAK handelt es sich um nur für Forschungszwecke bestimmte

Verfahren (research use only, RUO). Daher existieren bislang keine klinischen Cutoff-Werte sowie Angaben zu Sensitivität und Spezifität. Für ME/CFS werden jedoch Cutoff-Werte von 10 Units/ml für Anti-M3, 10,7 Units/ml für Anti-M4 und 14 Units/ml für Anti-β_2 angenommen (Loebel et al., 2016). In dieser Arbeit werden mögliche Korrelationen zwischen Ausprägungen klinischer Merkmale und (höheren oder niedrigeren) AAK-Titern im Sinne eines kontinuierlichen Spektrums untersucht. Dies erfolgt vor dem Hintergrund aktueller Hinweise aus der Literatur auf die regulatorische Funktion von AAK als Teil eines Netzwerks, in welchem sie die Homöostase verschiedener Systeme sichern, bei Erkrankungen aber hinsichtlich ihrer Funktion und/oder Konzentration gestört sein können (Cabral-Marques et al., 2018) (vgl. Kap 1.2.6 in dieser Arbeit). Es sind somit auch Erkrankungen mit verringerten AAK-Titern denkbar. Daher werden in dieser Studie keine Cutoff-Werte vorausgesetzt bzw. angenommen.

Die von CellTrend angebotenen ELISA-Verfahren sind eine verbreitete Methode zur Messung der hier untersuchten AAK-Titer, die entsprechenden Ergebnisse sind vielfach publiziert worden (Bynke et al., 2020; Cabral-Marques et al., 2018, 2022; Freitag et al., 2021; Giil et al., 2018; Hartwig et al., 2020; Loebel et al., 2016; Scheibenbogen et al., 2018; Scherbaum et al., 2020; Seidel et al., 2022; Sotzny et al., 2022; Tocut et al., 2022). Eine herstellerexterne Begutachtung erfolgte hinsichtlich des Qualitätsmanagements nach DIN EN ISO 13485:2016 (Medizinprodukte) und im Sinne eines GMP Zertifikats (CellTrend, 2022a). In der Literatur wird die Methode zudem mitunter positiv hervorgehoben, da eine Besonderheit die Verwendung von den Rezeptor überexprimierenden Membranextrakten zur Erhaltung der dreidimensionalen Struktur der Moleküle darstellt. Denn es wird vermutet, dass genau diese dreidimensionalen Strukturen – und nicht etwa lineare Peptide – von den AAK erkannt werden (Skiba und Kruse, 2021).

Konkret werden 96-Well-Mikrotiterplatten mit den jeweiligen GPCRs beschichtet. Diese werden aus der Membran von Zellen des chinesischen Zwerghamsters (Chinese Hamster Ovary-Cells, CHO-Zellen) gewonnen, die durch Transfektion in die Lage versetzt worden sind, den jeweiligen Rezeptor zu exprimieren. Zum Beschichten wird bovines Serumalbumin (BSA) verwendet, um unspezifische Bindung zu verhindern. Auf den mit dem entsprechenden GPRC beschichteten Mikrotiterplatten werden die AAK aus den Serumproben zunächst immobilisiert und dann von einem an Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase, HRP) gekoppelten Anti-Human-IgG-Antikörper detektiert. Anschließend erfolgt die

Inkubation mit dem Substrat 3,3‘,5,5‘-Tetramethylbenzidin (TMB) sowie die photometrische Messung der Farbreaktion bei 450 nm sowie 620 nm bzw. 690 nm als Referenz (vgl. Abbildung 2). Die Farbintensität korreliert mit Konzentration und/oder Avidität der AAK. Die Konzentration der Probelösung wird anhand einer Standardkurve bestimmt (Giil et al., 2018).

Die Intra- und Inter-Assay-Präzision sind in Tabelle 2 dargestellt. Sie geben die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse innerhalb eines Assays (also zwischen den Wells einer Assay Platte) bzw. zwischen Assays, die an verschiedenen Tagen durchgeführt werden, an. Kenngröße ist der Variationskoeffizient (VK).

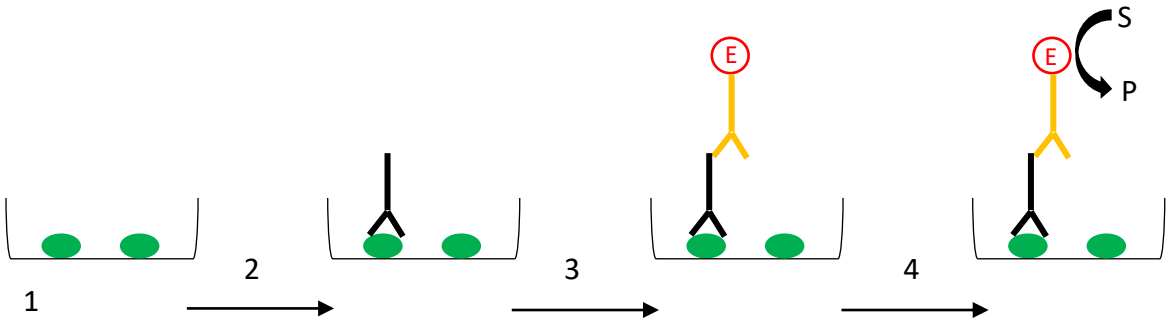


Abbildung 2
Prinzip des hier durchgeführten enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
1: mit GPCR beschichtete Mikrotiterplatte | 2: Inkubation mit Serumprobe, Immobilisierung der Autoantikörper
3: Inkubation mit Detektionsantikörper | 4: Inkubation mit Substrat TMB | E = Enzym (Meerrettichperoxidase, HRP)
S = Substrat (3,3‘,5,5‘-Tetramethylbenzidin, TMB) | P = Produkt

Tabelle 2
Präzision des in dieser Studie verwendeten enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA) | VK = Variationskoeffizient (vgl. Kap. 7.2. im Anhang)

		Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5	Anti-β_2
Intra-Assay-Präzision	**n**	10	10	10	10	10	10
	VK	4,1 %	9,9 %	5,9 %	7,3 %	3,9 %	7,3 %
Inter-Assay-Präzision	**n**	10	10	10	10	10	20
	VK	8,6 %	15,2 %	10,1 %	12,5 %	3,6 %	10,8 %

2.4 Klinische und epidemiologische Charakterisierung

2.4.1 Aktenrecherche

Die durch Aktenrecherche ermittelten Parameter werden dezidiert unter 3.1 aufgeführt. Die Datenerhebung erfolgte durch Sichtung der Arztbriefe und Standardlaborparameter sowie der radiologischen und funktionsdiagnostischen Befunde (Echokardiographie, Lun-

genfunktion) im digitalen Krankenhausinformationssystem „ORBIS“. Dabei gingen nur Befunde in die Auswertung ein, deren Erhebungszeitraum maximal 3 Monate vom Zeitpunkt der Fragebogenerhebung abwich und nur Laborbefunde, welche im selben Aufenthalt wie die Fragebogendaten erhoben worden waren.

2.4.1.1 Erfassung der Organbeteiligung und weiterer Diagnosen

Eine Organbeteiligung wurde vermerkt, wenn sie im Arztbrief explizit aufgeführt war, eine Lungenfibrose zusätzlich bei entsprechendem CT-Befund. Ebenso wurde für nicht SSc-assoziierte Herz- oder Lungenerkrankungen sowie die weiteren unter 3.1 beschriebenen Nebendiagnosen (z.B. Tumorerkrankungen, chronische Infektionskrankheiten, Schilddrüsenerkrankungen) verfahren. Diagnosen wurden außerdem vermerkt, wenn entsprechende pathologische Laborwerte vorlagen. Demnach bestand ein Diabetes mellitus bei einem HbA1c von ≥ 6,5 %, eine Anämie bei erniedrigtem Hb, sowie eine manifeste Hyperthyreose bei erhöhtem TSH und erniedrigtem freien Trijodthyronin/Thyroxin (fT3/fT4).

2.4.1.2 Erfassung der Hautbeteiligung

Die Erfassung der Hautsklerose erfolgte mittels des im Arztbrief vermerkten „modified Rodnan skin score“ (mRSS). Dieser wird ermittelt, indem von 17 Körperregionen durch Palpation die Hautdicke auf einer Skala von 0 (keine Hautverdickung) bis 3 (starke Hautverdickung) bestimmt wird. Anschließend wird ein Summenscore gebildet, der Werte von 0 bis 51 annehmen kann. Die Hautdicke kann als Surrogatmarker zur Einschätzung der Krankheitsaktivität sowie der Krankheitsschwere und der Mortalität fungieren (Khanna et al., 2017).

2.4.1.3 Laborparameter und funktionsdiagnostische Befunde

Adrenalin führt über den β_2-AdR zu Zellzahlveränderungen im Blut (Benschop et al., 1996). Als mögliches funktionelles Korrelat der AAK-Wirkung sowie zur Anämiediagnostik und Einschätzung der Gerinnungs- und Immunfunktion dokumentierte ich daher das Blutbild bzw. Differentialblutbild. Als Entzündungsmarker wurde außerdem das C-reaktive Protein (CRP) erfasst.

Zur genaueren Einschätzung der jeweiligen Organfunktion sowie einer möglichen muskulären Beteiligung wurden die Laborparameter Troponin T (Trop T), N-terminales pro brain natriuretic peptide (NTpro-BNP), Kreatinin (Krea), glomeruläre Filtrationsrate (GFR) und

Kreatinkinase (CK) sowie die Funktionsparameter der Lungenfunktion, nämlich Vitalkapazität (VC), forcierte Vitalkapazität (FVC) und Diffusionskapazität (TLCO), und die der Echokardiographie, nämlich Ejektionsfraktion (EF) und systolischer pulmonalarterieller Druck (sPAP), dokumentiert. Etwaige Elektrolytstörungen wurden mittels der Serumelektrolyte Natrium (Na^+) und Kalium (K^+) erfasst.

2.4.2 Anamnesebogen

Für den Anamnesebogen stellte ich Fragen nach derzeitigem und vergangenem Nikotin-, Drogen- und Alkoholkonsum zusammen. Die Grenze für risikoarmen Konsum beträgt > 12 g Reinalkohol pro Tag für Frauen und > 24 g pro Tag für Männer. Dies entspricht etwa einem bzw. zwei kleinen Gläsern Bier à 0,3 l (Seitz et al., 2008).

2.5 Psychometrische Charakterisierung

Für die psychometrische Charakterisierung wählte ich verschiedene Fragebögen aus, die sich in der Literatur als geeignet zur Erfassung der Fatigue und begleitender psychischer Phänomene erwiesen haben und im deutschsprachigen Raum validiert wurden.

2.5.1 Messung der Fatigue

2.5.1.1 Fatigue Severity Scale

Die Fatigue Severity Scale (FSS) wurde von Lauren B. Krupp entwickelt und in einer Studie mit Pat. mit Multipler Sklerose und SLE sowie Gesunden validiert (Krupp et al., 1989). Die Validierung der hier verwendeten deutschen Fassung erfolgte 2008 durch eine Schweizer Arbeitsgruppe (Valko et al., 2008). Der Fragebogen besteht aus 9 Items, die auf einer Skala von 1 bis 7 bewertet werden müssen, wobei 1 minimale und 7 maximale Zustimmung ausdrückt. Ein höherer Wert zeigt dabei mehr Fatigue an. Aus der Summe der Items wird ein Mittelwert zwischen 1 und 7 berechnet. Ein Mittelwert ≥ 4 weist auf eine deutliche Fatigue hin (Kaynak et al., 2006; Valko et al., 2008). Für den Fragebogen ist eine gute Retest-Reliabilität sowie mit einem Cronbachs α von 0,93 eine sehr gute interne Konsistenz gegeben (Valko et al., 2008).

2.5.1.2 Multidimensional Fatigue Inventory

Das Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) umfasst insgesamt 20 Items mit verschiedenen Aussagen, die jeweils auf einer Skala von 1 (ja, stimmt) bis 5 (nein, stimmt nicht)

bewertet werden müssen. Jeweils 4 Items sind einer von 5 verschiedenen Dimensionen der Fatigue zugeordnet, nämlich „general fatigue“ (generelle Fatigue, MFI-20_{gen}), „physical fatigue“ (physische Fatigue, MFI-20_{phys}), „reduced activity“ (reduzierte Aktivität, MFI-20_{act}), „reduced motivation“ (reduzierte Motivation, MFI-20_{mot}) und „mental fatigue“ (mentale Fatigue, MFI-20_{ment}). Die Summe der jeweils 4 Items ergibt den Wert der jeweiligen Dimension, wobei ein höherer Wert einer stärkeren Fatigue entspricht. Da die Aussagen sowohl positiv als auch negativ formuliert sind, bedarf es bei der Auswertung der Umkodierung einiger Items (Smets et al., 1995). In dieser Studie wurden die Dimensionen einzeln, oder stellvertretend die Ergebnisse der Skala der generellen Fatigue (MFI-20_{gen}) angegeben (Smets et al., 1995). Ein Gesamtscore ist ursprünglich nicht vorgesehen, obschon ein solcher von bestimmten Autor*innen aufgrund der hohen Korrelation der Skalen untereinander empfohlen wird (Schwarz et al., 2003).

Smets et al. zeigten für den Fragebogen größtenteils eine gute interne Konsistenz mit einem Cronbachs α zwischen 0,53 und 0,93, was in einer Studie an der deutschen Allgemeinbevölkerung vergleichbar reproduziert werden konnte. Die Validität ist ebenfalls zufriedenstellend, wobei die Fähigkeit des Fragebogens, zwischen Depression und Fatigue zu unterscheiden, bislang nicht abschließend geklärt werden konnte (Schwarz et al., 2003; Smets et al., 1995, 1996). Vorteile gegenüber anderen mehrdimensionalen Fragebögen sind die relative Kürze sowie der Verzicht auf somatische Kriterien. Zudem wurden Normwerte für die deutschen Allgemeinbevölkerung erhoben. Diese erwiesen sich als alters- und geschlechtsabhängig (Schwarz et al., 2003).

2.5.1.3 Brief Fatigue Inventory

Das Brief Fatigue Inventory (BFI) wurde initial für die Evaluation der Fatigue in der Onkologie entwickelt und validiert (Mendoza et al., 1999). Die Validierung der deutschen Version erfolgte mit Pat. mit Schmerzen, sowohl onkologischer, als auch nicht onkologischer Genese (Radbruch et al., 2003).

Der Fragebogen misst anhand von 9 Items (jetzige, übliche und stärkste Ermüdung in den letzten 24 Stunden, Beeinträchtigung von allgemeiner Aktivität, Stimmung, Gehvermögen, normaler Arbeit, Beziehungen zu anderen Menschen und Lebensfreude) den Schweregrad und den Grad der Einschränkung durch die Fatigue auf einer numerischen Rating-Skala (NRS) von jeweils 0 (keine Müdigkeit/keine Beeinträchtigung) bis 10 (stärkste vorstellbare Müdigkeit/vollständige Beeinträchtigung). Initial werden die Teilnehmenden gefragt, ob sie

sich in der letzten Woche ungewöhnlich müde oder matt gefühlt haben. In Anlehnung an die Testautor*innen wurde in dieser Studie ein Mittelwert der 9 Items errechnet, wenn mindestens 5 der Items korrekt beantwortet worden waren (Mendoza et al., 1999; Radbruch et al., 2003). Die Identifizierung einer schweren Fatigue erfolgte mittels Item Nr. 3 (stärkste Ermüdung in den letzten 24 Stunden) anhand eines Cutoffs von ≥ 8 (Mendoza et al., 1999; Radbruch et al., 2003). Der Fragebogen weist eine gute Validität und Reliabilität auf (Radbruch et al., 2003).

2.5.2 Messung der Tagesschläfrigkeit

2.5.2.1 Epworth Sleepiness Scale

Mit der Epworth Sleepiness Scale (ESS) wird anhand von 8 Items die Wahrscheinlichkeit in verschiedenen alltäglichen Situationen einzuschlafen erfasst. Nachdem jedes Item auf einer vierstufigen Skala von 0 (ich würde niemals einnicken) und 3 (hohe Wahrscheinlichkeit einzunicken) bewertet wurde, wird ein Summenscore (0-24 Punkte) gebildet.

Der Fragebogen weist eine ausreichende Retest-Reliabilität (r = 0,82) sowie eine gute interne Konsistenz auf, mit einem Cronbachs α von 0,73 bei Gesunden und 0,88 bei Pat. mit OSAS (Johns, 1991, 1992). Zudem weist die Literatur auf eine gute externe Validität hin (Johns, 2000). Ein allgemein anerkannter Cutoff liegt bei > 10 (Johns, 1994; Sauter et al., 2007).

2.5.3 Messung der Schlafqualität

2.5.3.1 Pittsburgh Schlafqualitätsindex

Die Schlafqualität wurde mittels Pittsburgh Schlafqualitätsindex (Pittsburgh Sleep Quality Index, PSQI) bestimmt. Der Fragebogen bezieht sich auf die letzten 4 Wochen. Insgesamt gehen 18 Fragen, die zu 7 Kategorien mit jeweils Werten von 0-3 zusammengefasst werden, in die Bewertung ein. Aus den 7 Kategorien wird ein Summenscore gebildet (0-21 Punkte). Ein höherer Score entspricht dabei einer schlechteren Schlafqualität. Anhand eines empirisch bestimmten Cutoff von > 5 kann eine Einteilung in „gute“ und „schlechte Schläfer*innen“ erfolgen (Buysse et al., 1989). Für den PSQI sind zufriedenstellende Testgütekriterien beschrieben (Carpenter und Andrykowski, 1998; Mollayeva et al., 2016).

2.5.4 Messung des Schmerzes

Zur Erfassung des Schmerzes wurde anhand dreier NRS die momentane (Sch_{mom}), übliche ($Sch_{übl}$) und maximale Schmerzstärke (Sch_{max}) der letzten 4 Wochen erfragt. Die Skalen umfassen 11 Stufen von 0 (kein Schmerz) bis 10 (stärkster vorstellbarer Schmerz) (Petzke et al., 2020).

2.5.5 Messung der Depressivität

2.5.5.1 Patient Health Questionnaire-9

Die Depressivität wurde mittels Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9), dem Depressionsmodul der deutschen Version des PHQ (PHQ-D, Gesundheitsfragebogen für Patient*innen) ermittelt. Das Modul enthält 9 Fragen zu Beschwerden, die sich an den DSM-IV Kriterien (diagnostisch-statistisches Manual psychischer Störungen) zur Diagnose der Depression (major depressive disorder, MDD) orientieren. Jede der Beschwerden muss nach der Häufigkeit ihres Auftretens auf einer vierstufigen Skala von 0 (überhaupt nicht) bis 3 (beinahe jeden Tag) beurteilt werden. Anschließend wird ein Summenscore gebildet (0-27 Punkte). Gängige Cutoff-Werte für den Summenscore lauten wie folgt: 0-4 minimale depressive Symptomatik, 5-9 milde depressive Symptomatik, 10-14 mittelgradige depressive Symptomatik, 15-19 mittelgradig schwere depressive Symptomatik, 20-27: schwere depressive Symptomatik (Kroenke et al., 2001).

Zum Screening wird ein Cutoff von ≥ 11 für die MDD, für depressive Störungen im Allgemeinen ein Cutoff von ≥ 9 empfohlen (Gräfe et al., 2004; Löwe et al., 2004b). Wird ein einzelner Cutoff gewünscht, kann ein Wert ≥ 10 gewählt werden (Kroenke und Spitzer, 2002).

Der Fragebogen weist eine gute Validität und interne Konsistenz (Cronbachs $\alpha = 0{,}88$) auf (Gräfe et al., 2004). Bezüglich der Kriteriumsvalidität hat sich der PHQ-9 im Vergleich mit anderen Fragebögen als überlegen erwiesen (Löwe et al., 2004a). Zudem hat sich der PHQ-9 für die Erfassung depressiver Symptome bei Pat. mit SSc als geeignet erwiesen (Milette et al., 2010).

2.5.6 Messung der Angstsymptomatik

2.5.6.1 Generalized Anxiety Disorder 7

Die Messung der Angstsymptomatik erfolgte mittels Generalized Anxiety Disorder 7 (GAD-7). Der Fragebogen umfasst 7 Items zu Beschwerden, die sich an den DSM-IV-Kriterien zur

Diagnose der generalisierten Angststörung orientieren (Spitzer et al., 2006). Er besitzt jedoch auch Aussagekraft bezüglich anderer Angsterkrankungen, wie z.B. der Panikstörung (Kroenke et al., 2007). Jede der abgefragten Beschwerden muss nach der Häufigkeit ihres Auftretens anhand einer vierstufigen Skala von 0 (überhaupt nicht) bis 3 (beinahe jeden Tag) beurteilt werden. Es wird ein Summenscore gebildet (0-21 Punkte), welcher folgendermaßen interpretiert werden kann: 0-4 minimale Angstsymptomatik, 5-9 mild ausgeprägte Angstsymptomatik, 10-14 mittelgradig ausgeprägte Angstsymptomatik, 15-21 schwer ausgeprägte Angstsymptomatik (Spitzer et al., 2006).

Für die klinische Anwendung im Sinne eines Screenings wird ein Cutoff ≥ 10 empfohlen. Dieser weist für die Diagnose der GAD eine Sensitivität von 89 % und eine Spezifität von 82 % auf (Löwe et al., 2008; Spitzer et al., 2006). Für die Erfassung von Angststörungen im Allgemeinen wird ein Cutoff von ≥ 8 empfohlen (Kroenke et al., 2007). Der Fragebogen ist valide und weist eine gute Reliabilität auf (Löwe et al., 2008; Spitzer et al., 2006).

2.6 Statistik

Die Ausarbeitung der Vorgehensweise erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Inke König vom Institut für Medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck.

2.6.1 Lageparameter

Zur Darstellung intervallskalierter oder verhältnisskalierter Daten wurden Mittelwert (M) und Standardabweichung (SD) angegeben. Für die ordinalskalierten Fragebogendaten eignet sich der Median mit Interquartilsabstand (IQR). Zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien wurde jedoch zusätzlich mit dem Mittelwert gearbeitet. Die Erstellung von Balken- und Tortendiagrammen erfolgte mit Microsoft Office Excel 2016 für Windows.

2.6.2 Rangkorrelation nach Spearman

Für die Korrelationsanalyse wurde Spearmans Rangkorrelationskoeffizient r berechnet. Dieser setzt im Gegensatz zum Korrelationskoeffizienten nach Pearson keine Normalverteilung und keine Intervallskalierung sowie keinen linearen Zusammenhang der Daten voraus und eignet sich auch für ordinalskalierte Daten. Der Rangkorrelationskoeffizient r kann Werte von -1 bis +1 annehmen, wobei r = -1 einer streng monoton gegensinnigen Korrelation, r = +1 einer streng monoton gleichsinnigen Korrelation und r = 0 keinem Zusammen-

hang entspricht (Harms, 2012). Die Berechnung und die Erstellung der Streudiagramme erfolgte in GraphPad Prism 4.0 und 9.0 für Windows. Die Spearman-Korrelationsanalysen der AAK mit den weiteren Variablen wurden zusätzlich freundlicherweise von Finn Lübber, wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Universität zu Lübeck, in R (R Core Team, 2020) mit dem package ‚Hmisc' (Harrel, 2021) durchgeführt und mit ‚corrplot' (Wei und Simko, 2017) visualisiert. Einige Laborparameter wurden aufgrund schiefer Verteilung zur besseren graphischen Darstellbarkeit logarithmiert.

2.6.3 Rangsummentest nach Mann-Whitney und Wilcoxon

Für den Vergleich zweier Gruppen kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung. Hierbei handelt es sich um einen Rangtest für unabhängige Stichproben, der keine Normalverteilung voraussetzt (Weiß, 2013). Die Berechnung und die Erstellung der Punktdiagramme erfolgte in GraphPad Prism 4.0 und 9.0 für Windows.

2.6.4 Signifikanzniveau

Das Signifikanzniveau wurde für alle Tests mit $\alpha = 0{,}05$ festgelegt. Ergebnisse wurden demnach als statistisch signifikant betrachtet, wenn $p \leq 0{,}05$ betrug. Da aufgrund des explorativen Charakters der Analysen nicht für multiples Testen korrigiert wurde, ist die Aussagekraft der p-Werte jedoch eingeschränkt und diese sollten lediglich im Sinne von Tendenzen bzw. Hinweisen auf einen möglichen Zusammenhang interpretiert werden.

3 ERGEBNISSE

3.1 Demographische und klinische Daten

Insgesamt konnten 102 SSc Pat. für die Studie rekrutiert werden. Davon waren 78 (76,5 %) weiblich, 24 (23,5 %) männlich. Das mittlere Alter betrug 55 ± 12,6 Jahre. Die ACR-EULAR Kriterien von 2013 wurden von 96 Pat. (94 %) erfüllt. Die verbleibenden 6 Pat. konnten klinisch eindeutig als SSc diagnostiziert werden. Die mittlere Krankheitsdauer betrug 94 ± 101 Monate. Bei 86 Pat. (84 %) war die Verlaufsform eindeutig zu eruieren. Davon zeigten 60 Pat. (70 %) eine lcSSc, 25 (29 %) eine dcSSc. Bei einem Teilnehmenden lag eine ssSSc vor (vgl. Abbildung 3). Ein Overlap Syndrom lag zusätzlich bei 22 Pat. (21,6 %) vor. Zudem waren bei 12 Pat. (11,8 %) weitere Autoimmunerkrankungen wie z.B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen dokumentiert. 60 Pat. (59 %) wiesen eine Organbeteiligung auf. Dabei war am häufigsten die gastrointestinale Beteiligung zu verzeichnen (n = 38, 37 %), gefolgt von pulmonaler (n = 37, 36 %), kardialer (n = 13, 13 %) und renaler (n = 2, 2 %) Beteiligung. 49 Pat. (48 %) zeigten eine muskuloskelettale Beteiligung oder ein Overlap mit einer entzündlichen Gelenkerkrankung (RA/Psoriasisarthritis) (vgl. Abbildung 4). Bei 27 Pat. (27 %) lag sowohl eine muskuloskelettale bzw. entzündliche Gelenkerkrankung als auch eine Organmanifestation vor. Bei 90 Pat. (88 %) war ein mRSS dokumentiert. Dieser betrug im Mittel 7,5 ± 6,7. Bei 49 Pat. (48 %) waren digitale Ulzerationen in der Vergangenheit dokumentiert, 26 (26 %) wiesen zum Zeitpunkt der Erhebung digitale Ulzerationen auf.

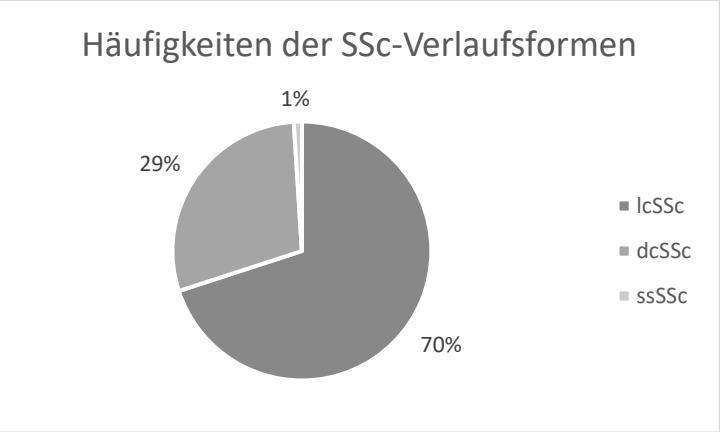


Abbildung 3
Häufigkeiten der Verlaufsformen der SSc in der untersuchten Kohorte
lcSSc = limitiert kutane SSc; dcSSc = diffus kutane SSc;
ssSSc = SSc sine scleroderma

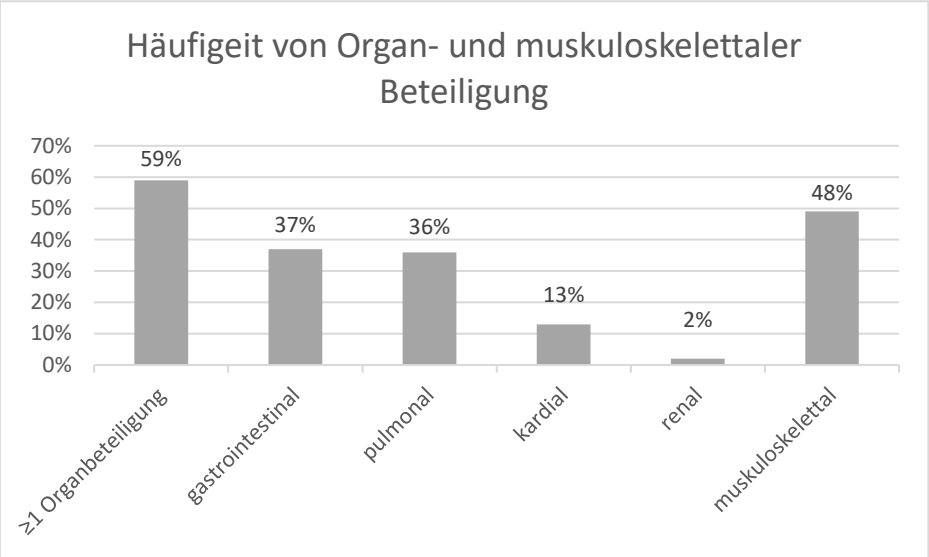


Abbildung 4
Häufigkeiten von Organbeteiligungen und muskuloskelettaler Beteiligung in der untersuchten Kohorte

3.1.1 Nebendiagnosen und Laborparameter

Als Referenzwerte für die Laborparameter fungierten die Werte des Zentrallabors des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (vgl. Tabelle 4 im Anhang). Bei 33 Pat. (32 %) lag in der Anamnese eine Herzerkrankung vor, bei 22 Pat. (22 %) eine Lungenerkrankung, die jeweils nicht auf eine Organbeteiligung bei SSc zurückzuführen waren. Die EF war bei 52 Pat. (51 %), ein sPAP bei 24 Pat. (24 %) dokumentiert. Davon wiesen jeweils 4 Pat. (7,7 %) eine verringerte EF < 53 % und 7 Pat. (29 %) einen erhöhten sPAP ≥ 35mmHg auf. Eine aktuelle VC lag bei 69 Pat. (68 %) vor und betrug im Mittel 83 ± 20 %. Die FVC lag bei 66 Pat. vor (65 %) und betrug im Mittel 82 ± 24 %, die TLCO lag bei 68 Pat. (67 %) vor, mit einem Durchschnitt von 78 ± 23 % (vgl. Tabelle 5 im Anhang).

Eine Schilddrüsenerkrankung war bei 32 Pat. (31 %) dokumentiert, wobei lediglich bei 51 Pat. (50 %) ein aktueller TSH-Wert erfasst war. Der Mittelwert lag bei 1,80 ± 1,09. Bei 4 der 102 Pat. (3,9 %) lag mindestens eine latente Hypothyreose vor, eine manifeste Hypothyreose konnte jedoch bei lediglich einem Patienten (1 %) eruiert werden. Bei 6 Pat. (5,9 %) bestand ein Diabetes mellitus. 20 Pat. (20 %) wiesen eine Adipositas (BMI ≥ 30 kg/m^2) auf, 3 Pat. (2,9 %) waren untergewichtig (BMI ≤ 18,5 kg/m^2). Bei 11 Pat. (10,8 %) war eine Tumorerkrankung in der Anamnese bekannt.

Bei 95 der Pat. (93 %) wurde zum Zeitpunkt der Erhebung ein Blutbild bestimmt. Davon wiesen 26 Pat. (27 %) eine Anämie auf. Der minimale Hb-Wert lag bei 8,9 g/dl, der mittlere Hb betrug 12,67 ± 1,52 g/dl. Die mittlere Thrombozytenzahl lag bei 272 ± 71 x 10^9/l, die mittlere Leukozytenzahl bei 7,29 ± 2,33 x 10^9/l. 7 Pat. (7,4 %) wiesen eine Leukozytose auf, 4 Pat. (4,2 %) eine Leukopenie, 8 Pat. (8,4 %) eine Thrombozytose und 4 Pat. (4,2 %) eine Thrombopenie. Ein Differentialblutbild war bei 94 der Pat. (92 %) bestimmt worden. Die mittlere Neutrophilenzahl lag bei 5,16 ± 2,26 x 10^9/l, bei einer maximalen Neutrophilenzahl von 15,62 x 10^9/l und einer minimalen Neutrophilenzahl von 1,38 x 10^9/l. 12 Pat. (12,8 %) wiesen eine Neutrophilie auf und ein Patient (1,1 %) eine Neutropenie. Die mittlere Lymphozytenzahl lag bei 1,36 ± 0,59 x 10^9/l. 29 Pat. (31 %) wiesen eine Lymphopenie auf. Dabei waren 22 (76 %) unter immunsuppressiver Therapie, davon 12 Pat. (41 %) mit Steroiden. Die minimale Lymphozytenzahl betrug 0,25 x 10^9/l. Eine Lymphozytose lag in keinem Fall vor.

Natriumwerte lagen bei 96 (94 %), Kaliumwerte bei 95 (93 %) Pat. vor. Die Mittelwerte für Natrium und Kalium betrugen 140,5 ± 2,05 und 4,10 ± 0,37 mmol/l. Eine schwere Elektrolytstörung wies keine*r der Pat. auf. Bei 2 Pat. (2,1 %) war eine Hyponatriämie von 132 und 135 mmol/l zu verzeichnen, bei 2 Pat. (2,1 %) eine Hypokaliämie von 3,03 und 3,44 mmol/l. Weitere 21 Pat. (22 %) wiesen eine Hyperkaliämie von max. 4,99 mmol/l auf.

Bei 97 Pat. (95 %) waren Nierenfunktionsparameter dokumentiert. In 41 Fällen (42 %) zeigte sich eine milde (GFR < 90) und in 10 Fällen (10 %) eine mittelschwere (GFR < 60) Nierenfunktionseinschränkung. Der Kreatininwert lag im Mittel bei 72,99 ± 16,98 µmol/l.

Ein CRP-Wert war bei 95 Pat. (93 %) bestimmt worden. Dabei fand sich bei 21 Pat. (22 %) ein erhöhter Wert von ≥ 5,0 mg/l. Der maximale Wert lag bei 40 mg/l, der Mittelwert betrug 4,16 ± 5,99 mg/l. Trop T war bei 29 Pat. (28 %) bestimmt worden, dabei zeigte sich in 11 Fällen (38 %) ein erhöhter Wert von > 14 ng/l. Der Mittelwert betrug 58,51 ± 177,2 ng/l. NT-proBNP war bei 80 Pat. (78 %) bestimmt worden. Es zeigte sich in 30 Fällen (38 %) ein erhöhter Wert. Der Mittelwert betrug 510,1 ± 1090 ng/l. Ein aktueller CK-Wert lag bei 82 Pat. (80,4 %) vor. Bei 13 Pat. (16 %) zeigte sich ein erhöhter Wert. Der Mittelwert betrug 194,5 ± 582 U/l.

3.1.2 Medikamente

61 Pat. (59,8 %) befanden sich zum Zeitpunkt der Erhebung unter einer Therapie mit Immunsuppressiva. Die einzelnen Medikamente sind in Abbildung 5 aufgeführt.

Eine Einnahme von Benzodiazepinen war in keinem der Fälle dokumentiert. 7 Pat. (6,9 %) nahmen Opioide, 6 Pat. (5,9 %) Antidepressiva, 51 Pat. (50 %) Antihypertensiva und 11 Pat. (10,8 %) Betablocker ein. Eine genaue Auflistung der Häufigkeiten einzelner Medikationen zeigt Tabelle 6 im Anhang.

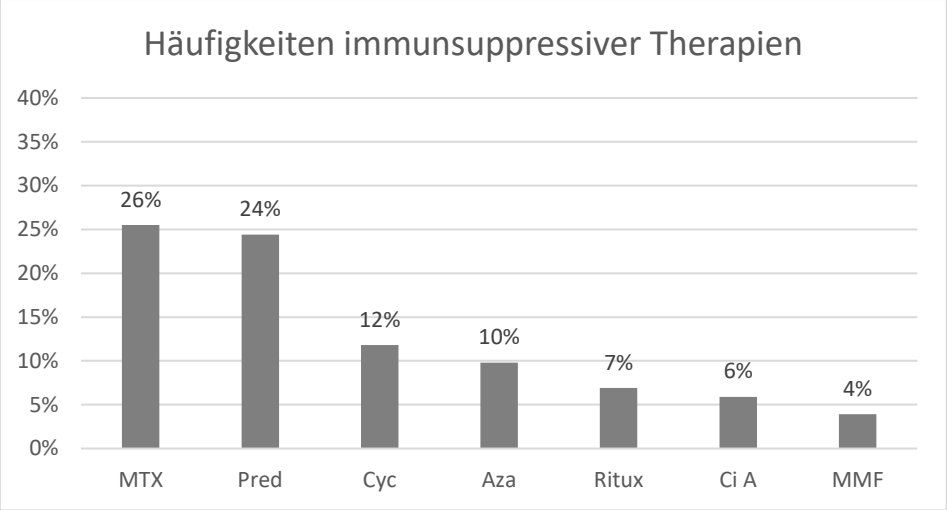


Abbildung 5
Häufigkeiten immunsuppressiver Therapie in der untersuchten Kohorte zum Zeitpunkt der Datenerhebung
MTX = Methotrexat; Pred = Prednisolon/Prednison; Cyc = Cyclophosphamid; Aza = Azathioprin; Ritux = Rituximab
Ci A = Ciclosporin A; MMF = Mycophenolatmofetil

3.1.3 Noxengebrauch

3 Pat. (2,9 %) gaben einen Alkoholkonsum von durchschnittlich mehr als 12 g bzw. 24 g pro Tag an. Von 7 Pat. (6,9 %) war diesbezüglich keine Angabe gemacht worden. Drogenkonsum im Sinne von Cannabisgebrauch wurde in einem Fall (1 %) angegeben. 55 Pat. (54 %) gaben Nikotinkonsum in der Vergangenheit an. 21 (20,5 %) waren zum Zeitpunkt der Erhebung nach wie vor Raucher*innen. Von 82 Teilnehmenden (80 %) konnten pack years ermittelt werden, mit einem Mittelwert von 7,1 ± 11,6 (vgl. Tabelle 7 im Anhang).

3.2 Psychometrische Daten

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der Lageparameter der Fragebogendaten.

Tabelle 3
Lageparameter der Fragebogendaten | SD = Standardabweichung; IQR = Interquartilsabstand; FSS = Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert; BFI_{max}= Brief Fatigue Inventory, stärkste Ermüdung; $MFI\text{-}20_{gen}$ = Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; ESS = Epworth Sleepiness Scale; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire-9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7; Sch_{mom} = momentaner Schmerz; $Sch_{übl}$ = üblicher Schmerz; Sch_{max} = maximaler Schmerz

	n, %	Mittelwert ± SD	Median (IQR)	Spannweite	Cutoff
FSS	101, 99	3,68 ± 1,74	3,60 (3)	1-7	≥ 4
BFI_M	98, 96	3,3± 2,4	3,2 (4)	0-9	-
BFI_{max}	97, 95	5,1± 3,2	5,0 (6)	0-10	≥ 8
$MFI\text{-}20_{gen}$	96, 94	12,1±4,3	13,0 (7)	4-20	-
PSQI	98, 96	7,7±4,7	7,0 (6)	1-19	> 5
ESS	100, 99	7,9±5,2	7,0 (7)	0-22	> 10
PHQ-9	98, 96	7,9±6,1	7,0 (10)	0-24	≥ 10
GAD-7	35, 34	7,4±6,0	7,0 (9)	0-21	≥ 10
Sch_{mom}	97, 95	2,7±2,4	3,0 (4)	0-9	-
$Sch_{übl}$	97, 95	3,2± 2,4	3,0 (4)	0-9	-
Sch_{max}	96, 94	4,5±3,1	5,0 (5)	0-10	-

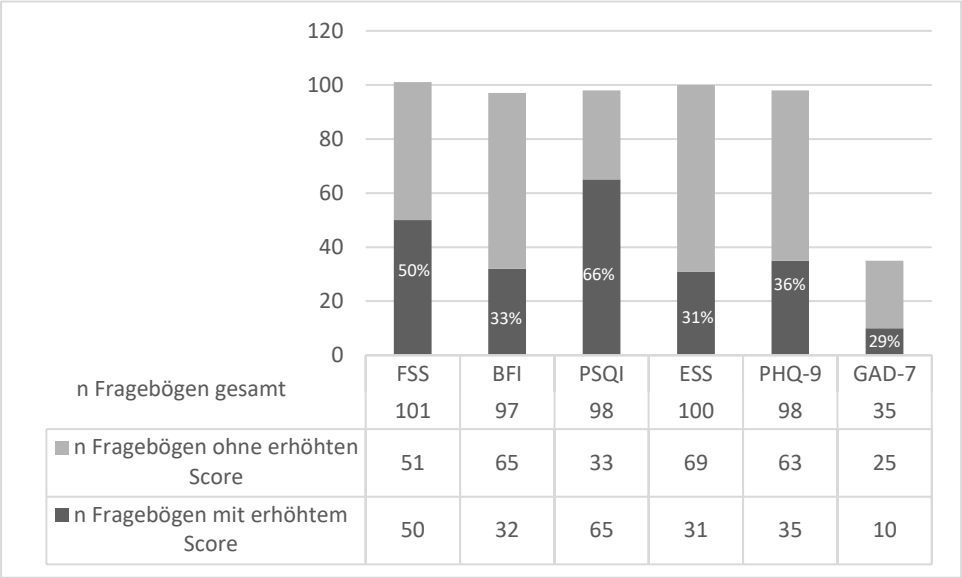
3.2.1 Fatigue

3.2.1.1 Fatigue Severity Scale

101 Pat. (99 %) hatten die FSS korrekt ausgefüllt. Der Mittelwert lag bei 3,68 ± 1,74 (vgl. Tabelle 3). Bei einem Cutoff von ≥ 4 wiesen 50 Pat. (50 %) eine deutliche Fatigue auf (vgl. Abbildung 6).

3.2.1.2 Brief Fatigue Inventory

92 Pat. (90 %) hatten den Fragebogen beantwortet, ohne ein Item auszulassen. Ein Mittelwert konnte von 98 Teilnehmenden (96 %) bestimmt werden. Dieser lag im Durchschnitt bei 3,3 ± 2,4. Eine dezidierte Aufstellung der Lageparameter der einzelnen Subskalen zeigt Tabelle 8 im Anhang. 96 Pat. (94 %) hatten die Eingangsfrage („Haben Sie sich in der letzten Woche ungewöhnlich müde oder matt gefühlt?“) beantwortet, davon 51 (53 %) mit „ja“. Diese Pat. zeigten im Mittel einen höheren BFI-Score (4,8 ± 2,1) als solche, die mit nein geantwortet hatten (1,7 ± 1,5). Bei einem Cutoff von ≥ 8, bezogen auf die Skala der maximalen Fatigue, zeigten 32 Pat. (33 %) eine schwere Fatigue (vgl. Abbildung 6).



	FSS	BFI	PSQI	ESS	PHQ-9	GAD-7
n Fragebögen gesamt	101	97	98	100	98	35
n Fragebögen ohne erhöhten Score	51	65	33	69	63	25
n Fragebögen mit erhöhtem Score	50	32	65	31	35	10

Abbildung 6
Häufigkeiten erhöhter Fragebogenparameter in der untersuchten Kohorte
FSS = Fatigue Severity Scale; BFI = Brief Fatigue Inventory; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index;
ESS = Epworth Sleepiness Scale; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire-9
GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7

3.2.1.3 Multidimensional Fatigue Inventory

89 Pat. (87 %) hatten den Fragebogen korrekt ausgefüllt. Wenn lediglich ein Item vergessen oder nicht eindeutig ausgefüllt worden war, wurde dieses, wie in der Literatur vorgeschlagen, durch den gerundeten Mittelwert der übrigen 3 Items ersetzt (Schwarz et al., 2003). Wurde mehr als ein Item einer Subskala vergessen, wurde die entsprechende Subskala von der Analyse ausgeschlossen. Um die Ergebnisse mit den von Schwarz et al. für die Allgemeinbevölkerung ermittelten Werten vergleichbar zu machen, wurden die Lageparameter getrennt nach Geschlecht und sortiert in drei Altersgruppen (≤ 39-Jährige, 40-59-Jährige, ≥ 60-Jährige) berechnet. Die höchsten Werte fanden sich in allen Skalen in der Gruppe der ≤ 39-jährigen Männer, mit dem höchsten Mittelwert in der Skala der physischen Fatigue (15,5 ± 2,6). Frauen hingegen wiesen im Mittel die höchsten Werte in der Gruppe der ≥ 60-Jährigen in der Skala der generellen Fatigue auf (12,4 ± 3,6). Die niedrigsten Werte wiesen in der Gruppe der Frauen im Mittel die ≤ 39-Jährigen in der Skala der reduzierten Motivation auf (9,3 ± 3,6). In der Gruppe der Männer hingegen die ≥ 60-Jährigen in der Skala der mentalen Fatigue (6,9 ± 2,5) (vgl. Abbildung *7* & Tabelle 9 im Anhang).

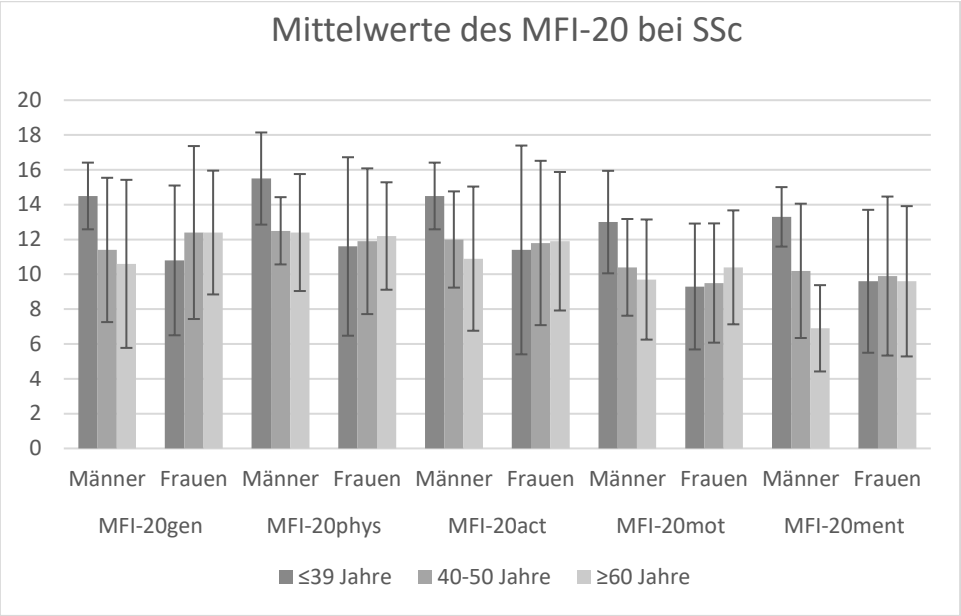


Abbildung 7
Mittelwerte und Standardabweichungen der fünf Dimensionen der Fatigue gemessen mittels MFI-20 (generelle Fatigue (MFI-20gen), physische Fatigue (MFI-20phys), reduzierte Aktivität (MFI-20act), reduzierte Motivation (MFI-20mot), mentale Fatigue (MFI-20ment)) in der untersuchten Kohorte getrennt nach Geschlecht und Altersgruppen

3.2.2 Schlafqualität

Bei 98 Pat. (96 %) konnte ein PSQI ermittelt werden. Der Mittelwert lag bei 7,7 ± 4,65. 65 Pat. (66 %) waren „schlechte Schläfer*innen“ (vgl. Abbildung 6). Unter den Frauen wiesen 51 Pat. (69 %) Schlafstörungen auf, bei den Männern waren es 14 (58 %).

3.2.3 Tagesschläfrigkeit

100 Pat. (98 %) hatten die ESS korrekt ausgefüllt. Der Mittelwert lag bei 7,9 ± 5,2. Eine erhöhte Tagesschläfrigkeit mit einem Wert von > 10 in der ESS lag bei 31 Pat. (31 %) vor (vgl. Abbildung 6).

3.2.4 Depressivität

98 Pat. (96 %) hatten den PHQ-9 korrekt ausgefüllt. Der Mittelwert lag bei 7,9 ± 6,1. Bei dem von Kroenke et al. vorgeschlagenen allgemeinen Cutoff von ≥ 10 wiesen 35 (36 %) eine (mindestens mittelgradige) depressive Symptomatik auf (vgl. Abbildung 6). 37 Pat. (38 %) wiesen einen Wert ≥ 9, 31 Pat. (32 %) einen Wert ≥ 11 auf.

3.2.5 Angstsymptomatik

Der GAD-7 wurde erst später im Verlauf der Studie eingeführt und konnte dann noch bei 35 (34 %) Teilnehmenden erhoben werden. Der Mittelwert lag bei 7,4 ± 6,0.

10 der Pat. (29 %) lagen über dem Cutoff von ≥ 10 (vgl. Abbildung 6). Bei einem Cutoff von ≥ 8 waren es sogar 14 (40 %) Pat. mit nennenswerter Angstsymptomatik. 5 Pat. (14,3 %) wiesen mit einem Wert zwischen 10 und 14 eine mittelgradige Angstsymptomatik auf. Weitere 14,3 % zeigten eine schwere Angstsymptomatik mit Werten zwischen 15 und 21.

3.2.6 Schmerz

Werte für den momentanen und den üblichen Schmerz konnten bei 97 Teilnehmenden (95 %), für den maximalen Schmerz bei 96 Teilnehmenden (94 %) ermittelt werden. Der momentane Schmerz lag bei durchschnittlich 2,7 ± 2,4, der übliche bei 3,2 ± 2,4 und der maximale Schmerz bei 4,5 ± 3,1 Punkten auf der NRS. Der maximale Schmerz lag bei Pat. mit muskuloskelettaler Beteiligung höher als bei solchen ohne (vgl. Abbildung 8).

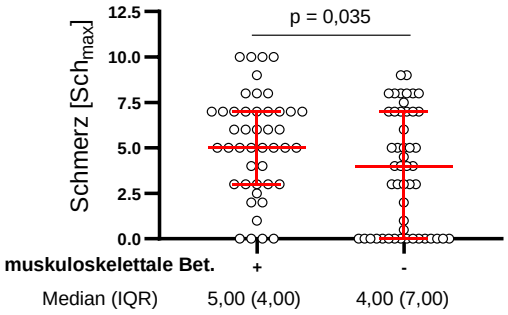


Abbildung 8
Maximaler Schmerz bei Pat. mit muskuloskelettaler (+) und ohne (-) muskuloskelettale Beteiligung in der untersuchten Kohorte | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

3.2.7 Mit Fatigue assoziierte Variablen

Abbildung 9 zeigt im Überblick die Korrelationsmatrix der erhobenen Parameter. In Abbildung 10 sind lediglich die signifikanten Ergebnisse visualisiert.

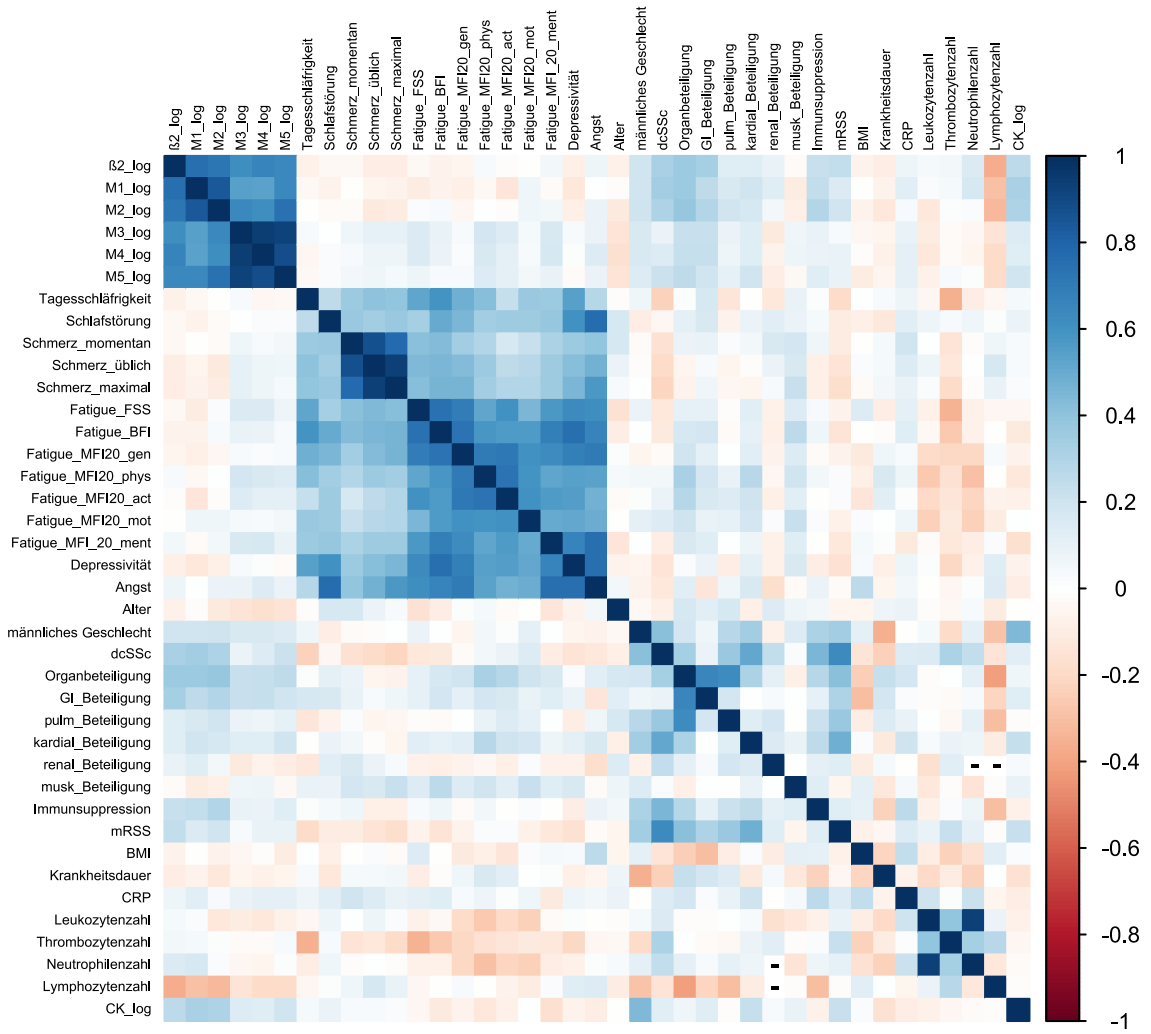


Abbildung 9

Spearman Korrelationsanalyse der erhobenen Parameter. Es sind auch die nicht signifikanten Ergebnisse dargestellt. Positive Korrelationen sind in Blau, negative Korrelationen in Rot dargestellt. Die Helligkeit des Farbtons zeigt die Stärke der Korrelation an, wobei ein dunklerer Farbton einer stärkeren Korrelation entspricht. Fehlende Ergebnisse aufgrund zu geringer Datenmenge sind mit Querstrichen dargestellt.

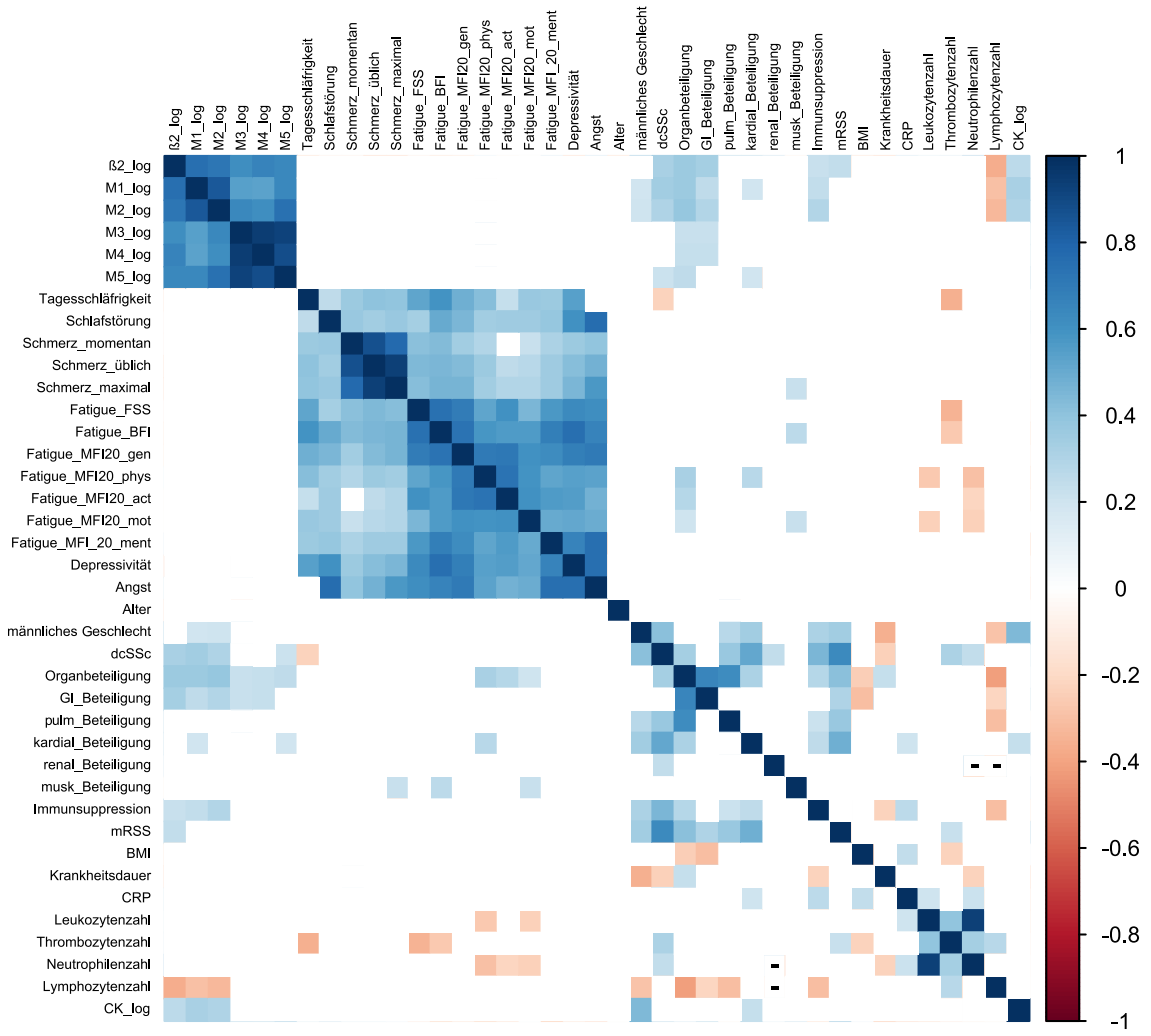


Abbildung 10
Spearman Korrelationsanalyse der erhobenen Parameter. Es sind nur die signifikanten Ergebnisse dargestellt. Positive Korrelationen sind in Blau, negative Korrelationen in Rot dargestellt. Die Helligkeit des Farbtons zeigt die Stärke der Korrelation an, wobei ein dunklerer Farbton einer stärkeren Korrelation entspricht. Fehlende Ergebnisse aufgrund zu geringer Datenmenge sind mit Querstrichen dargestellt.

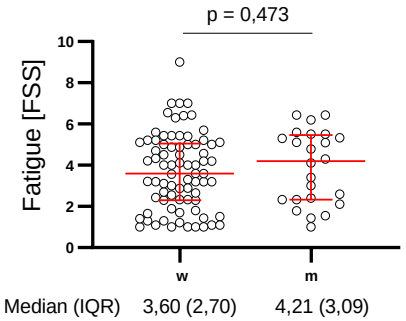
3.2.7.1 Alter und Geschlecht

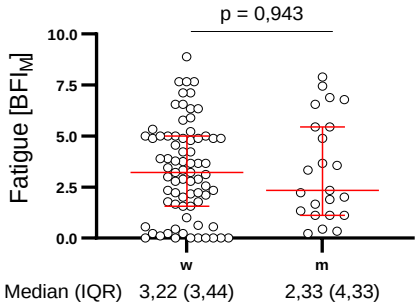
Gemäß FSS wiesen die Männer mit 4,2 vs. 3,6 deskriptiv einen höheren Median auf als die Frauen (vgl. Abbildung 11). Gemessen mittels BFI und MFI-20_{gen} lag der Median hingegen bei den Frauen höher als bei den Männern (3,2 vs. 2,3 und 13,0 vs. 12,0). Im Mann-Whitney-U-Test zeigte sich kein Unterschied zwischen Frauen und Männern hinsichtlich der Fatigue (z.B. p= 0,473 für die FSS).

Abbildung 12 zeigt die entsprechenden Fatigue-Scores getrennt nach den Altersgruppen der ≤ 39-, 40-59- und ≥ 60-Jährigen. In allen drei Fragebögen wies jeweils die Gruppe der ≤ 39-Jährigen den höchsten Median auf. Ein Unterschied im Mann-Whitney-U-Test zeigte sich jedoch lediglich in der FSS zwischen den Gruppen der ≤ 39- und der ≥ 60-Jährigen (p=0,025). In der Spearman-Korrelation zeigte sich für keinen der drei Fragebögen eine Korrelation zwischen Fatigue und Alter (vgl. Tabelle 10 im Anhang).

3.2.7.2 Klinische Manifestationen

Im Mann-Whitney-U-Test zeigten Pat. mit Organbeteiligung in der Skala der physischen Fatigue höhere Werte als solche ohne (p=0,001). In der Skala der generellen Fatigue sowie gemessen mittels BFI und FSS ließ sich dies hingegen nicht darstellen (z.B. p=0,300 für die FSS) (vgl. Abbildung 13). In der Korrelationsanalyse zeigte sich eine positive Assoziation zwischen Organbeteiligung und Fatigue außer in der Skala der physischen Fatigue auch in denen der reduzierten Aktivität und Motivation (vgl. Abbildung 10). Pat. mit muskuloskelettaler Beteiligung zeigten gemessen mittels BFI mehr Fatigue als solche ohne (p=0,009), während sich dies für FSS, generelle und physische Fatigue nicht zeigen ließ (z.B. p=0,137 für die FSS) (vgl. Abbildung 14). Die Korrelationsanalyse ergab zusätzlich eine positive Assoziation zwischen muskuloskelettaler Beteiligung und reduzierter Motivation (vgl. Abbildung 10). Es zeigte sich in Bezug auf die Fatigue kein Unterschied im Mann-Whitney-U-Test zwischen Pat. mit immunsuppressiver Therapie und solchen ohne (p=0,726 für die FSS; p=0,514 für das BFI; p=0,821 für MFI-20_{gen}), ebenso wenig zwischen Pat. mit lcSSc und dcSSc (p=0,450 für die FSS; p=0,583 für das BFI; p=0,837 für MFI-20_{gen}). Es zeigte sich keine Korrelation der Fatigue mit der Krankheitsdauer, dem mRSS, Parametern der Organfunktion oder dem BMI (vgl. Abbildung 10 & Tabelle 20 im Anhang).





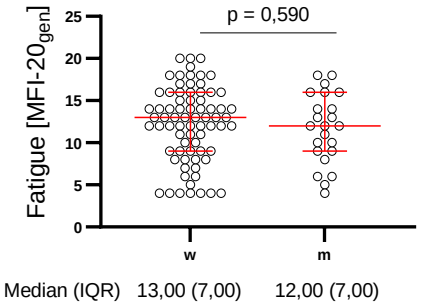
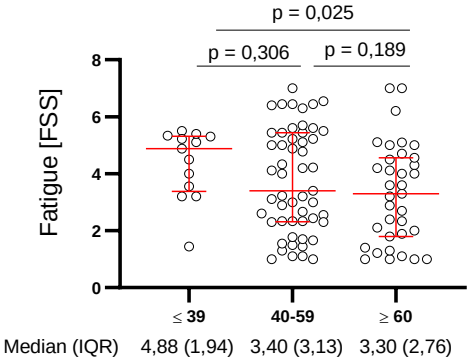
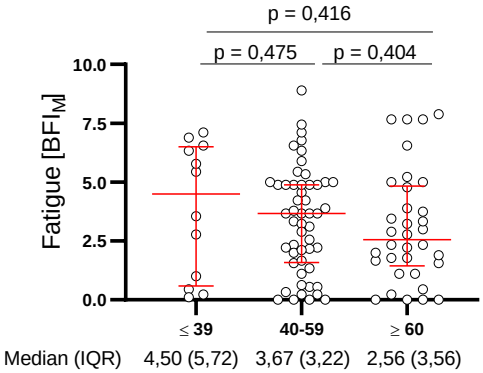


Abbildung 11
Fatigue bei weiblichen (w) und männlichen (m) Pat. in der untersuchten Kohorte gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI$_M$) und Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20$_{gen}$) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt





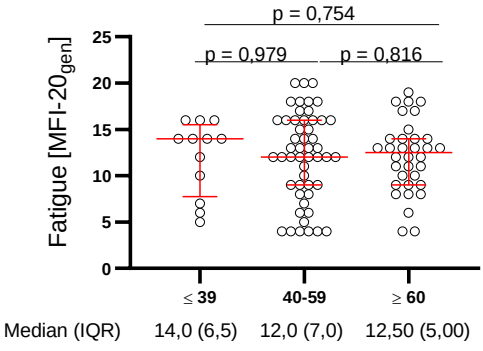


Abbildung 12
Fatigue in der untersuchten Kohorte gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI$_M$) und-Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20$_{gen}$) getrennt nach Altersgruppen | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

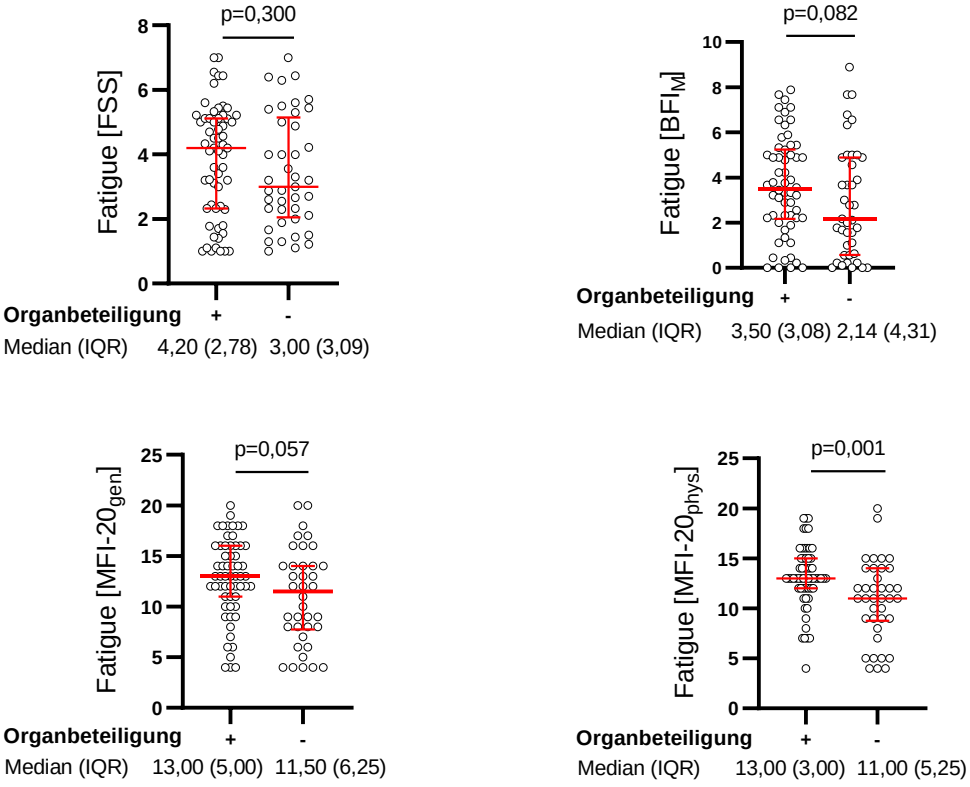


Abbildung 13

Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI$_M$) und Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20$_{gen}$, MFI-20$_{phys}$) bei Pat. mit Organbeteiligung (+) und solchen ohne (-) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

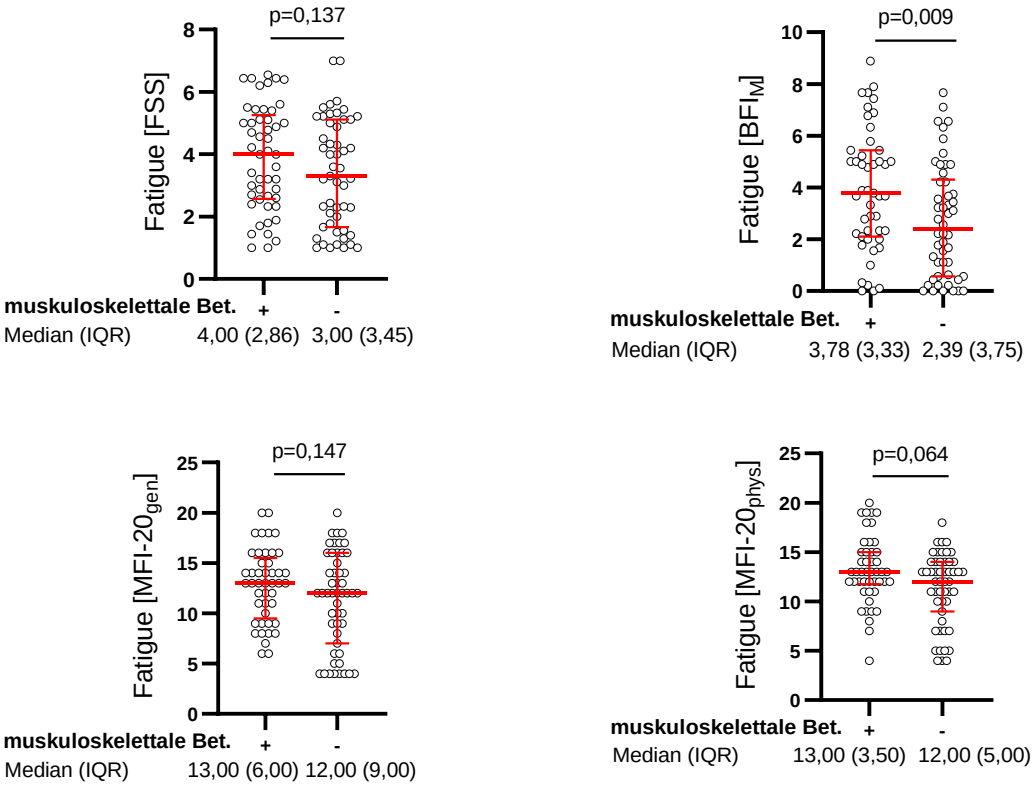


Abbildung 14

Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory (BFI$_M$) und Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20$_{gen}$, MFI-20$_{phys}$) bei Pat. mit muskuloskelettaler (+) und ohne (-) muskuloskelettale Beteiligung | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

3.2.7.3 Fragebogenparameter

In der Rangkorrelation nach Spearman zeigte sich eine positive Korrelation der drei Fatigue-Fragebögen untereinander (vgl. Abbildung 15 für FSS, BFI und MFI-20_{gen}). Die r-Werte lagen zwischen 0,46 und 0,74 (vgl. Tabelle 11 im Anhang). Zudem zeigten auch alle weiteren psychometrischen Fragebogenparameter eine positive Korrelation untereinander (vgl. Abbildung 10 & Tabelle 12 im Anhang). Die Tagesschläfrigkeit korrelierte vergleichsweise nur gering mit der Schlafqualität (r = 0,26; p = 0,010). Die stärkste positive Korrelation der Fatigue zeigte sich (hier erläutert für das BFI) mit der Depressivität (r = 0,76; p < 0,001), gefolgt von der Angstsymptomatik (r = 0,67; p < 0,001), der Tagesschläfrigkeit (r = 0,60; p < 0,001) und der Schlafqualität (r = 0,51; p < 0,001) sowie dem üblichen (r = 0,46; p < 0,001), maximalen (r = 0,46; p < 0,001) und momentanen (r = 0,44; p < 0,001) Schmerz (vgl. Abbildung 16 für das BFI). Die Korrelationen der einzelnen Subskalen des BFI sowie des MFI-20 finden sich dezidiert in Tabelle 13 & Tabelle 14 im Anhang. Pat. mit Schlafstörungen (PSQI > 5) und solche mit erhöhter Tagesschläfrigkeit (ESS > 10), Depressivität (PHQ-9 ≥ 10) und Angstsymptomatik (GAD-7 ≥ 10) zeigten im Mann-Whitney-U-Test in allen drei Fragebögen auch mehr Fatigue (vgl. Tabelle 15 & Abbildung 34 & Abbildung 35 im Anhang).

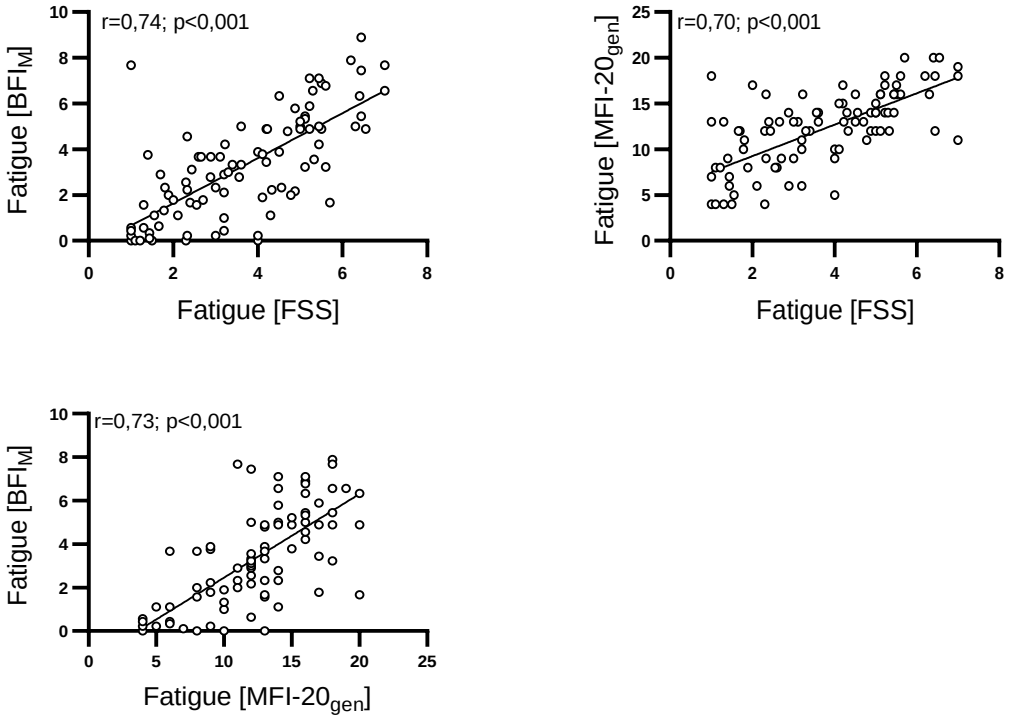


Abbildung 15
Korrelation der Fatigue-Fragebögen untereinander
FSS = Fatigue Severity Scale; BFI_M = Brief Fatigue Inventory, Mittelwert; MFI-20_{gen} = Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue

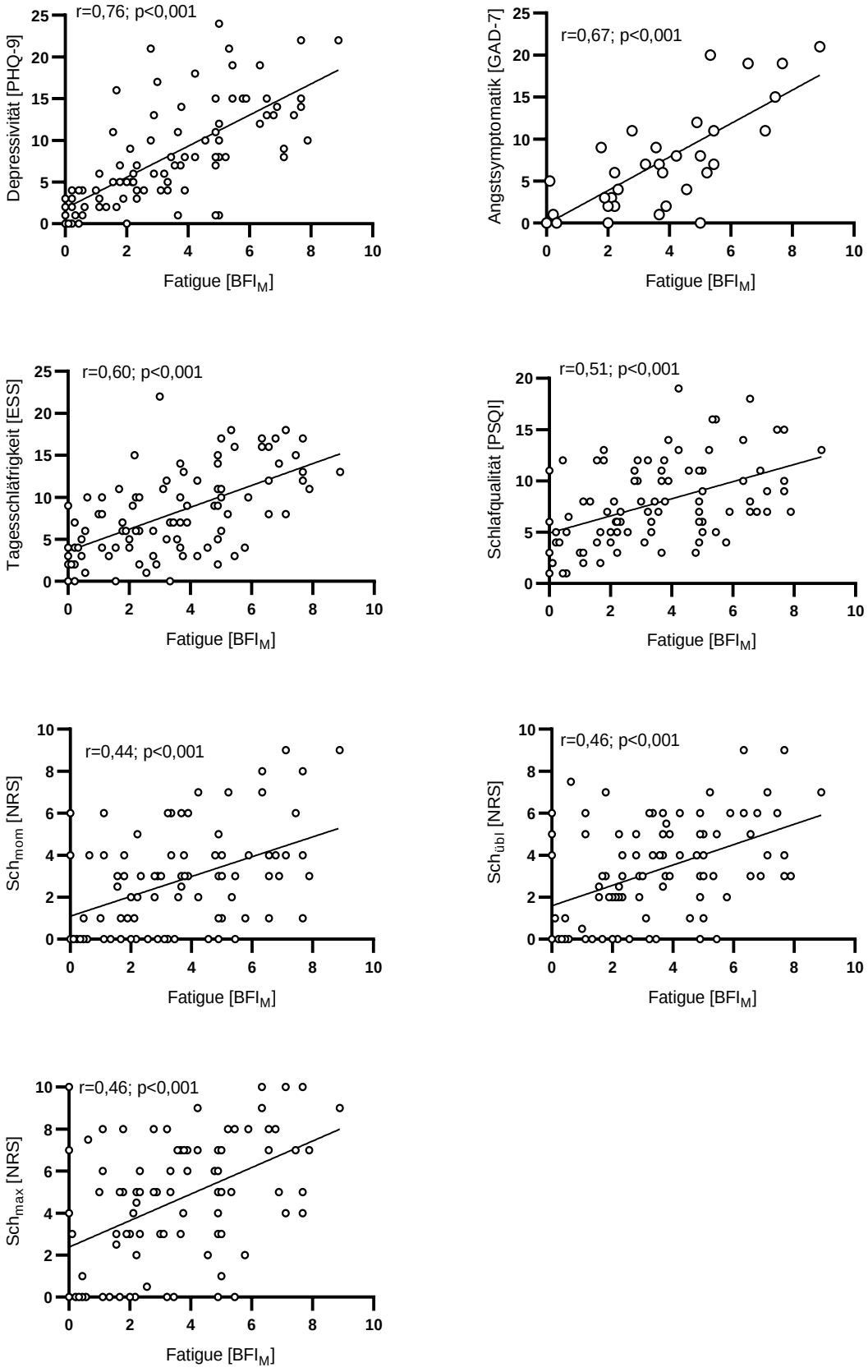


Abbildung 16
Korrelation der Fatigue gemessen mittels Brief Fatigue Inventory (BFI_M) mit der Depressivität (PHQ-9), der Angstsymptomatik (GAD-7), der Tagesschläfrigkeit (ESS) und der Schlafqualität (PSQI) sowie dem momentanen (Sch_{mom}), üblichen ($Sch_{übl}$) und maximalen Schmerz (Sch_{max})

3.2.7.4 Autoantikörper und weitere Laborparameter

Deskriptiv zeigte sich eine positive Assoziation der Fatigue mit Anti-M3, -M4 und -M5 (vgl. Abbildung 9). Eine signifikante Korrelation der Fatigue mit den AAK konnte jedoch nicht nachgewiesen werden (vgl. Abbildung 10 & Tabelle 16 im Anhang).

Interessanterweise zeigte sich jedoch eine negative Korrelation der Thrombozytenzahl mit der Fatigue gemessen mittels FSS ($r = -0,34$; $p < 0,001$) und BFI ($r = -0,26$; $p = 0,011$) sowie mit der Tagesschläfrigkeit ($r = -0,35$; $p = 0,001$; vgl. Abbildung 10, Abbildung 17 & Tabelle 17 im Anhang). Zudem zeigte sich eine negative Korrelation der Leukozytenzahl mit den Skalen der physischen Fatigue und reduzierten Motivation sowie der Neutrophilenzahl mit den Skalen der physischen Fatigue, reduzierten Aktivität und reduzierten Motivation des MFI-20 (vgl**.** Abbildung 10 & Tabelle 18 im Anhang).

Es zeigte sich hingegen keine signifikante Korrelation der Fatigue mit dem CRP, der CK oder einem anderen Laborparameter (Tabelle 19 & Tabelle 20 im Anhang).

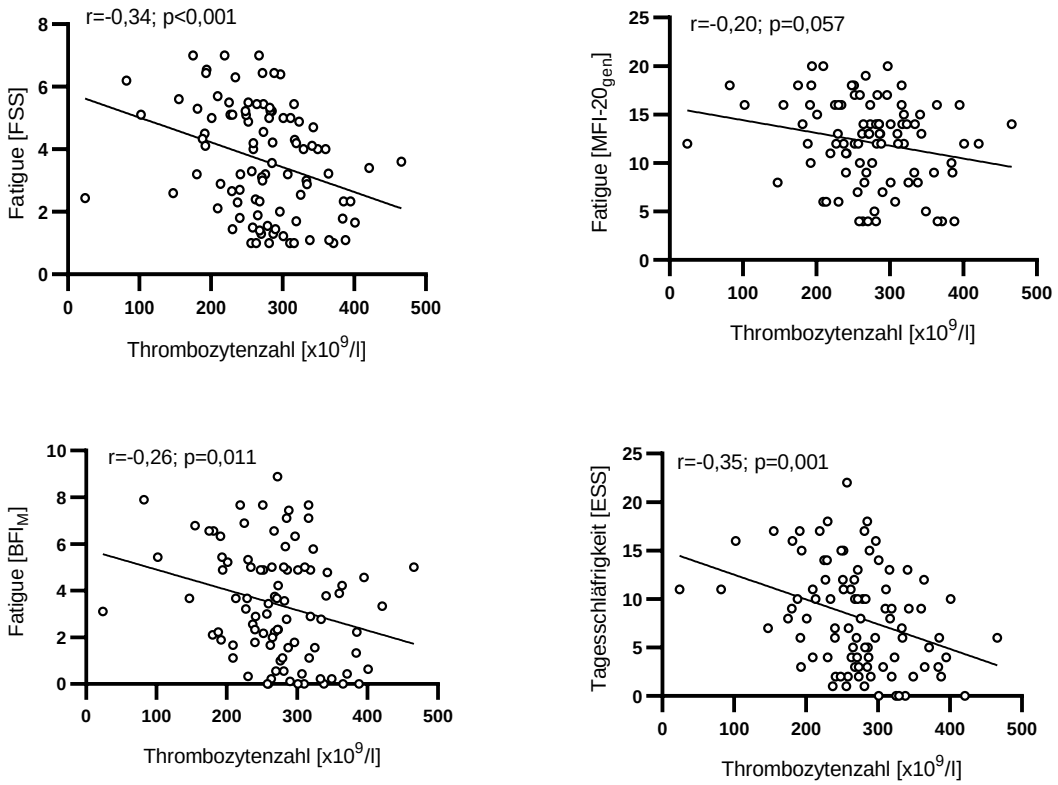


Abbildung 17
Korrelation der Thrombozytenzahl mit der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) sowie mit der Tagesschläfrigkeit gemessen mittels Epworth Sleepines Scale (ESS)

3.3 Weitere Assoziationen der Autoantikörper

Von allen Proband*innen lagen Messwerte vor (n = 102, 100 %). Die Lageparameter der AAK-Titer zeigt Tabelle 21 im Anhang. Die Mittelwerte lagen bei 12,2 ± 17,1 Units/ml für Anit-M1, 9,2 ± 13,4 Units/ml für Anti-M2, 6,4 ± 6,1 Units/ml für Anti-M3, 7,7 ± 7,0 Units/ml für Anti-M4, 7,3 ± 8,2 Units/ml für Anti-M5 und 11,3 ± 12,1 Units/ml für Anti-β_2 (vgl. Abbildung 18).

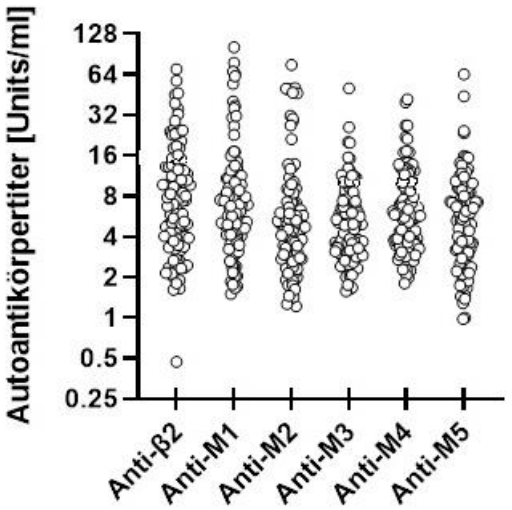


Abbildung 18
Übersicht der Autoantikörpertiter in der untersuchten Kohorte

Eine Übersicht der p-Werte für die Vergleiche verschiedener Subgruppen der Pat. zeigt Tabelle 22 im Anhang. Männer wiesen im Mann-Whitney-U-Test höhere Autoantikörpertiter gegen M1 und M2 auf als Frauen (vgl. Abbildung 19 für Anti-β_2, -M1 und -M2). Es ergab sich keine Korrelation der Autoantikörpertiter mit dem Alter (vgl. Tabelle 23 im Anhang) und auch kein Unterschied zwischen den Altersgruppen der ≤ 39-, 40-59- und ≥ 60-Jährigen (vgl. Abbildung 20 für Anti-β_2, -M1 und -M2). Pat. mit Organbeteiligung zeigten höhere Autoantikörpertiter gegen alle sechs Rezeptoren als solche ohne Organbeteiligung. Am ausgeprägtesten stellte sich dies für Anti-β_2, -M1 und -M2 dar (vgl. Abbildung 21 für Anti-β_2, -M1 und -M2). Zudem zeigten auch Pat. mit immunsuppressiver Therapie höhere Anti-β_2-, M1- und M2-Titer als Pat. ohne eine solche (vgl. Abbildung 22 für Anti-β_2, -M1 und -M2).

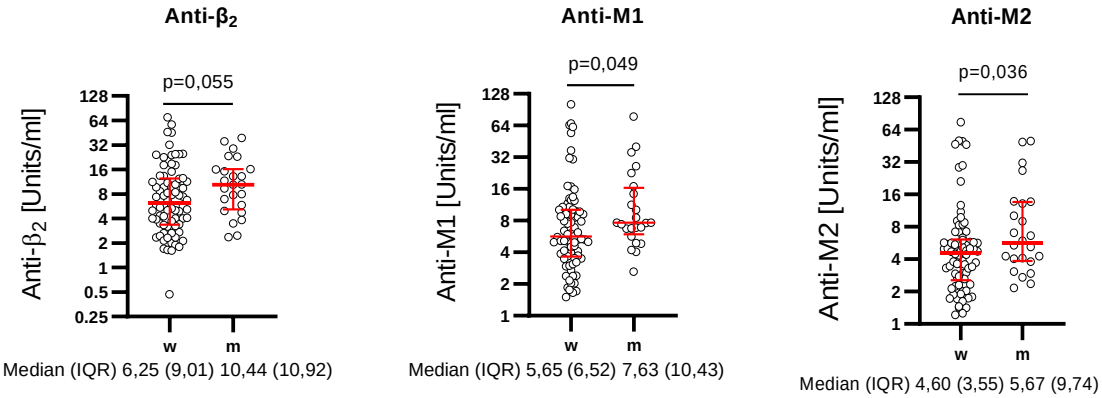


Abbildung 19
Autoantikörpertiter bei Frauen (w) und Männern (m) in der untersuchten Kohorte | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

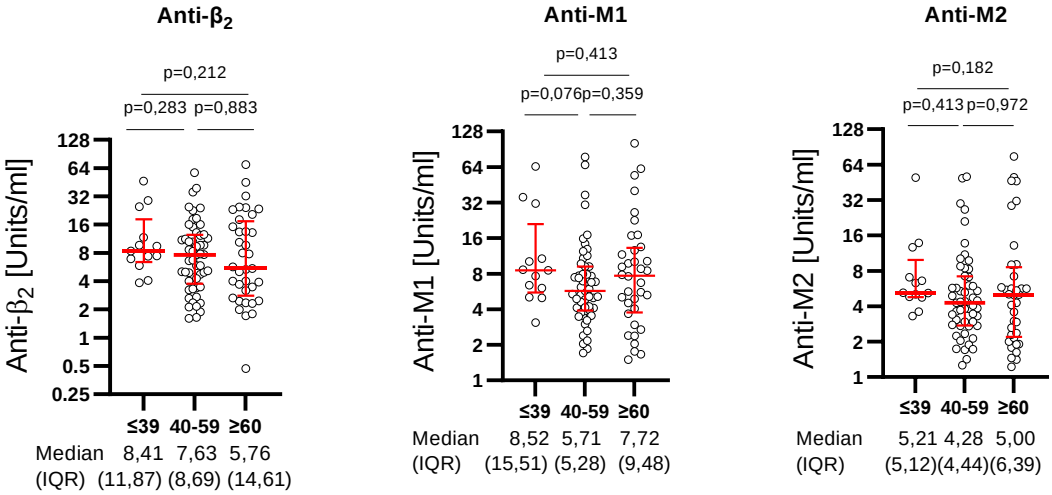


Abbildung 20
Autoantikörpertiter der untersuchten Kohorte in der Gruppe der ≤ 39-, 40-59- und ≥ 60-Jährigen | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

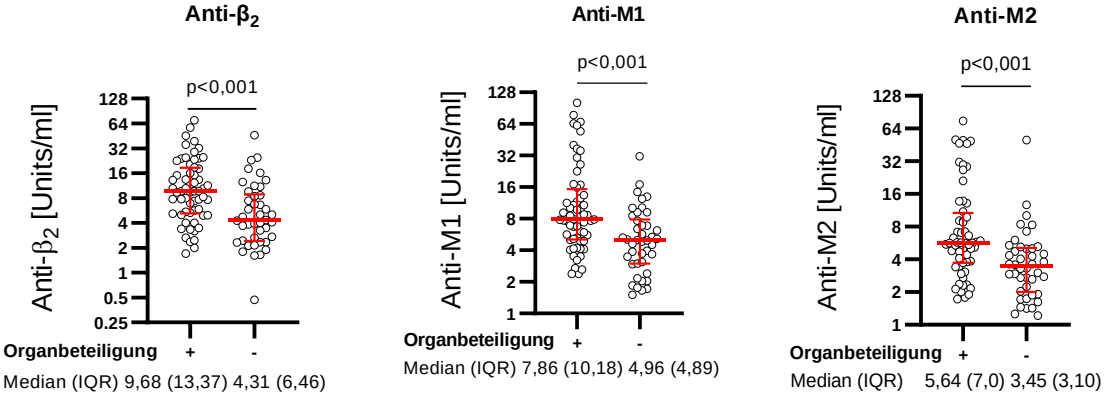


Abbildung 21
Autoantikörpertiter bei Pat. mit Organbeteiligung (+) und solchen ohne (-) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

Bei Betrachtung der spezifischen Organbeteiligungen zeigten Pat. mit GI-Beteiligung höhere Anti-β_2-, M1-, M2-, M3- und M4-Titer (vgl. Abbildung 23 für Anti-β_2, -M1 und -M2) und Pat. mit kardialer Beteiligung höhere Anti-M1- und Anti-M5-Titer als solche ohne die jeweilige Organbeteiligung (vgl. Abbildung 36 im Anhang). Es ergab sich hingegen kein Unterschied zwischen Pat. mit pulmonaler beziehungsweise muskuloskelettaler Beteiligung und Pat. ohne die jeweilige Beteiligung (vgl. Tabelle 22 im Anhang).

Pat. mit dcSSc zeigten höhere Anti-β_2-, M1-, M2- und M5-Titer als Pat. mit lcSSc (vgl. Abbildung 24 für Anti-β_2, -M1 und -M2). Es zeigte sich kein Unterschied im Hinblick auf Anti-β_2 zwischen Pat. mit Betablocker Therapie und solchen ohne (p = 0,264).

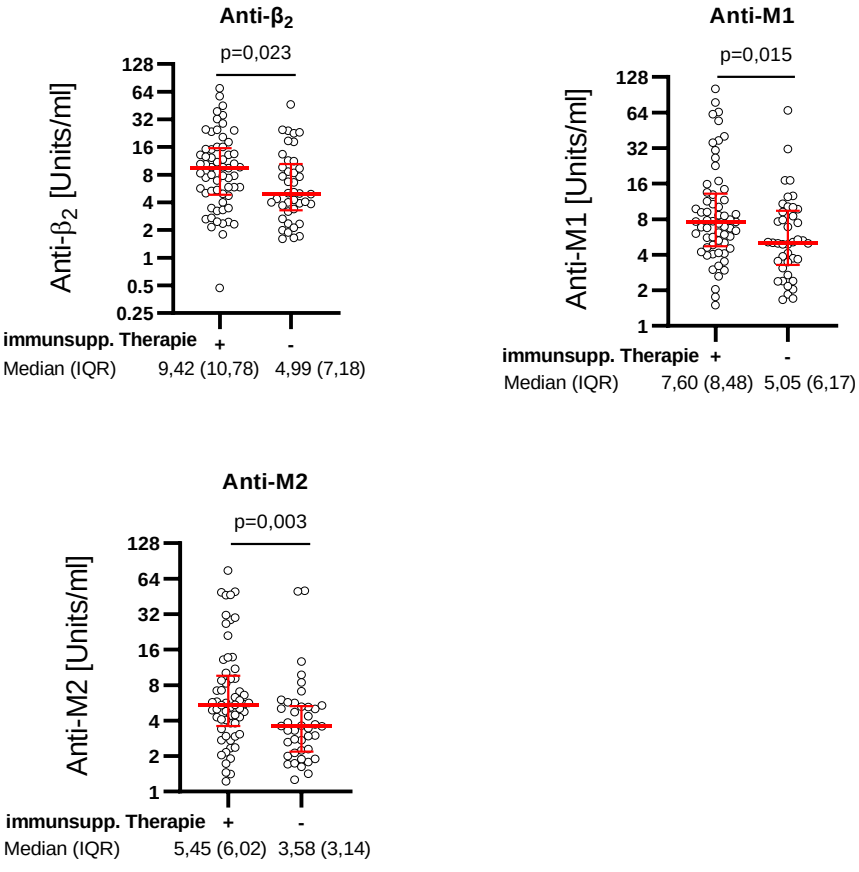


Abbildung 22
Autoantikörpertiter bei Pat. mit immunsuppressiver Therapie (+) und solchen ohne (-) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

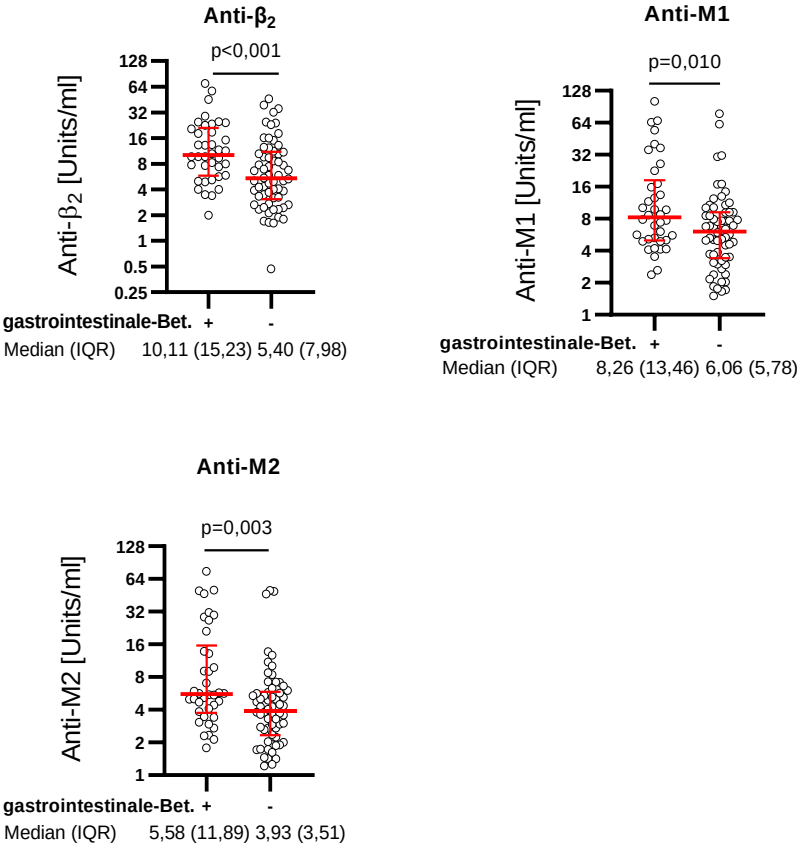


Abbildung 23
Autoantikörpertiter bei Pat. mit gastrointestinaler Beteiligung (+) und solchen ohne (-) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

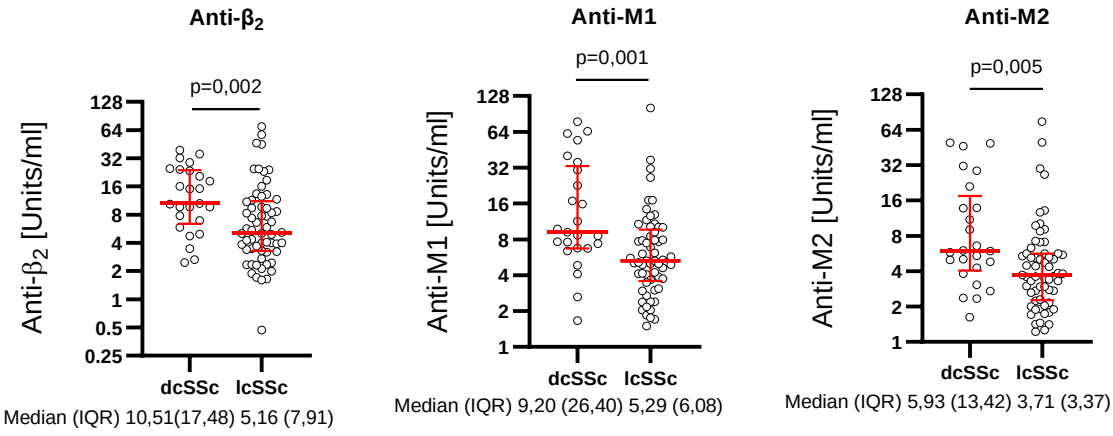


Abbildung 24
Autoantikörpertiter bei Pat. mit dcSSc und lcSSc | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt.
dcSSc = diffus kutane systemische Sklerose; lcSSc = limitiert kutane systemische Sklerose

Es zeigte sich eine positive Korrelation aller Autoantikörpertiter untereinander (vgl. Abbildung 25 für Anti-β_2 /-M1, Anti-β_2/-M2 und Anti-M1/-M2). Am ausgeprägtesten stellte sich dies zwischen Anti-M3 und -M4 ($r = 0,95$; $p < 0,001$), Anti-M4 und -M5 ($r = 0,88$; $p < 0,001$) sowie Anti-M1 und -M2 ($r = 0,84$, $p < 0,001$) dar. Dahingegen zeigten Ani-M1 und -M4 ($r = 0,53$; $p < 0,001$) sowie Anti-M1 und -M3 ($r = 0,54$; $p < 0,001$) die geringste Korrelation (vgl. Tabelle 24 im Anhang).

Zudem zeigte sich eine negative Korrelation von Anti-β_2, -M1 und -M2 mit der Lymphozytenzahl ($r = -0,36$; $p < 0,001$ für Anti-β_2; $r = -0,29$; $p = 0,004$ für Anti-M1; $r = -0,32$; $p = 0,002$ für Anti-M2) und eine positive Korrelation dieser AAK mit der CK ($r = 0,26$; $p = 0,017$ für Anti-β_2; $r = 0,33$; $p = 0,003$ für Anti-M1; $r = 0,30$; $p = 0,006$ für Anti-M2; vgl. Abbildung 26 & Tabelle 25 im Anhang). Anti-β_2 korrelierte zudem positiv mit dem mRSS im Sinne der Hautbeteiligung ($r = 0,25$; $p = 0,018$; vgl. Abbildung 27 & Tabelle 26 im Anhang). Pat. mit immunsuppressiver Therapie im Allgemeinen sowie systemischer Glukokortikoidtherapie im Speziellen wiesen eine niedrigere Lymphozytenzahl auf als solche ohne diese Therapien (vgl. Abbildung 28).

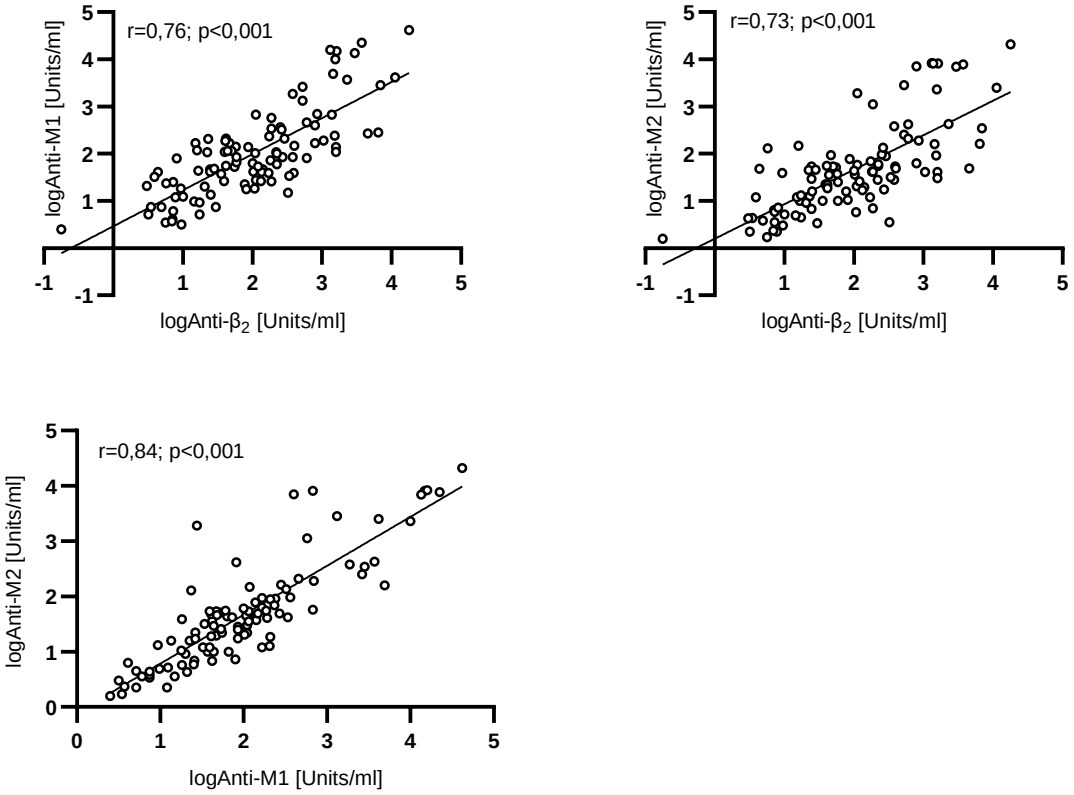


Abbildung 25
Korrelation von Anti-M1 mit -M2 und von Anti-β_2 mit Anti-M1 und -M2

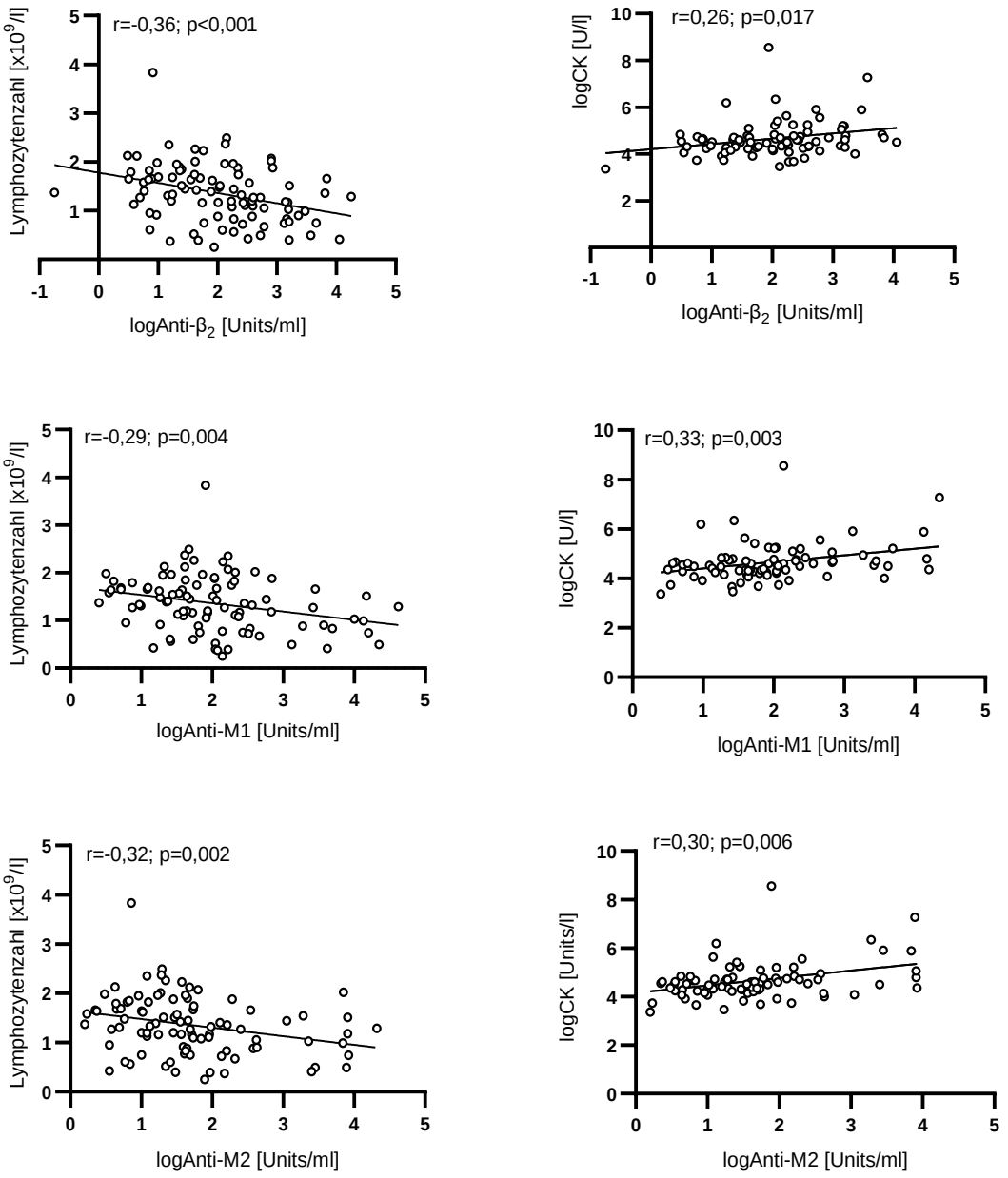


Abbildung 26
Korrelation von Anti-β_2, -M1 und- M2 mit der Lymphozytenzahl und der Creatinkinase (CK)

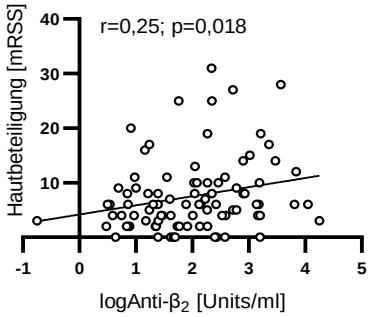


Abbildung 27
Korrelation von Anti-β_2 mit der Hautbeteiligung (modified Rodnan Skin Score, mRSS)

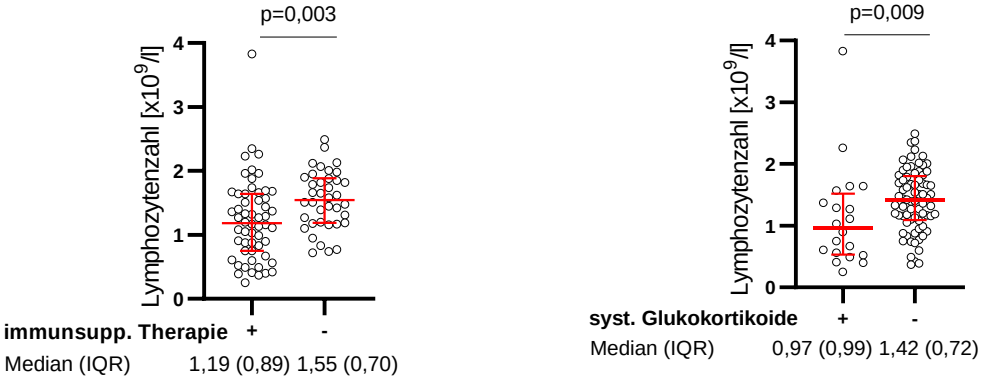


Abbildung 28
Lymphozytenzahl bei Pat. mit immunsuppressiver Therapie bzw. Glukokortikoidtherapie (+) und solchen ohne diese Therapien (-) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt

4 DISKUSSION

4.1 Zusammensetzung der Kohorte

Unsere SSc-Kohorte deckt sich bezüglich der Verhältnisse von Geschlechtern, Verlaufsformen und Organbeteiligungen weitestgehend mit der Literatur, wobei die Männer mit einer Häufigkeit von 1 : 3 sogar leicht überrepräsentiert sind (Varga, 2018). Häufigkeiten der Unterformen werden in der Literatur mit ca. 45 % für die lcSSc und ca. 33 % für die dcSSc angegeben. Die übrigen 20 % bilden Overlap Syndrome bzw. undifferenzierte Skleodermieformen sowie mit < 2 % die ssSSc. In dieser Kohorte war die lcSSc mit 70 % und die dcSSc mit 29 % vertreten, wobei die Krankheitsform nicht in allen Fällen eindeutig eruiert werden konnte. Bezieht man diese nicht eindeutig klassifizierbaren Fälle in die prozentuale Verteilung mit ein, so ergeben sich 59 % für die lcSSc und 25 % für die dcSSc. Die gastrointestinale Beteiligung war im Einklang mit der Literatur auch in dieser Kohorte die häufigste, gefolgt von pulmonaler, kardialer und renaler Beteiligung. Insgesamt jedoch waren Organbeteiligungen, insbesondere die gastrointestinale und renale Beteiligung verglichen mit der Literatur verhältnismäßig selten vertreten (37 % vs. 90 % für die gastrointestinale und 2 % vs. 10-15 % für die renale Beteiligung) (Varga, 2018). Da in den Arztbriefen möglicherweise nicht jede Organbeteiligung explizit Erwähnung fand, kann die Häufigkeit jedoch unterschätzt worden sein.

4.2 Prävalenzen zentralnervöser Symptome bei SSc

4.2.1 Fatigue

Insgesamt konnte bestätigt werden, dass Fatigue bei SSc ein häufiges Symptom darstellt. Je nach Fragebogen hatten 33 % bzw. 50 % der Pat. eine Fatigue gezeigt. Gemessen mit der FSS (Cutoff ≥4) wiesen 50 Pat. (50 %) eine Fatigue auf. Passend dazu hatten 53 % die Eingangsfrage des BFI („Haben Sie sich in der letzten Woche ungewöhnlich müde oder matt gefühlt?“) mit „ja“ beantwortet. Die Angaben über die Prävalenz der Fatigue bei SSc schwanken in der Literatur stark und eine Vergleichbarkeit der Studien ist aufgrund unterschiedlicher Methodik und Stichproben nur bedingt gegeben. Eine große internationale Studie an Pat. mit verschiedenen rheumatischen Erkrankungen hatte jedoch eine mit unserer Studie vergleichbare Prävalenz der Fatigue bei SSc von 48 % gezeigt. Allerdings war hier die Vitalitätsskala des „Short Form 36“ Gesundheitsfragebogens (SF-36) zur Messung

der Fatigue verwendet worden. Dieser misst mittels acht verschiedener Domänen (Vitalität, körperliche Funktionsfähigkeit, körperliche Schmerzen, allgemeine Gesundheitswahrnehmung, körperliche und emotionale Rollenfunktion, soziale Funktionsfähigkeit, psychisches Wohlbefinden) die gesundheitsbezogene Lebensqualität (Tarlov et al., 1989). Zudem waren Alter, Geschlecht und Länderzugehörigkeit nicht nach Erkrankungen aufgeschlüsselt worden, sodass sich keine Aussage zur Vergleichbarkeit der Studie bezüglich dieser Parameter machen lässt. Auch war zwischen Pat. mit zusätzlicher Fibromyalgie und solchen ohne unterschieden worden, was in unserer Studie nicht erfolgt ist (Overman et al., 2016). Von Ibn Yacoub et al. war eine deutlich höhere Prävalenz der Fatigue bei SSc von 89 % gefunden worden. In der relativ kleinen Kohorte (n = 64) waren jedoch 91 % weiblichen Geschlechts, zudem war fast ausschließlich die dcSSc vertreten gewesen (95 %). Schwere Fatigue war ab einem Wert auf der visuellen Analogskala (VAS) von ≥ 50 mm definiert worden (Ibn Yacoub et al., 2012).

Eine ebenfalls deutlich höhere Prävalenz von 76 % hatten Sandusky et al. in einer Kohorte von 107 SSc Pat. gezeigt. Hier war die Prävalenz jedoch anhand des „scleroderma symptom ranking questionnaire“ ermittelt worden, welcher von den Autor*innen selbst erstellt worden war und lediglich erfragt, ob derzeit subjektiv eine Fatigue besteht. Das Ergebnis ist somit am ehesten mit der Eingangsfrage des BFI, ob man sich in der letzten Woche ungewöhnlich müde oder matt gefühlt habe, vergleichbar. Diese war in unserer Kohorte immerhin von 53 % mit „ja“ beantwortet worden (Sandusky et al., 2009).

Eine Limitation unserer Studie ergibt sich an dieser Stelle aus dem Fehlen einer Kontrollgruppe. Verschiedene Untersuchungen hatten in der Vergangenheit jedoch bereits zeigen können, dass die Prävalenz der Fatigue bei SSc deutlich höher ist als in der Allgemeinbevölkerung (Basta et al., 2018). Auch in unserer Studie ergaben sowohl die FSS als auch das BFI eine höhere Prävalenz der Fatigue im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. So zeigte sich bezogen auf die FSS in unserer Studie bei einem Cutoff von ≥ 4 eine Prävalenz von 50 %, während die Prävalenz in der gesunden Kontrollgruppe (n = 454) einer Schweizer Studie lediglich bei 18 % lag (Valko et al., 2008). Bezogen auf das BFI zeigte sich eine Prävalenz von 33 %, welche vergleichbar ist mit der Prävalenz bei Pat. mit Tumorerkrankungen.

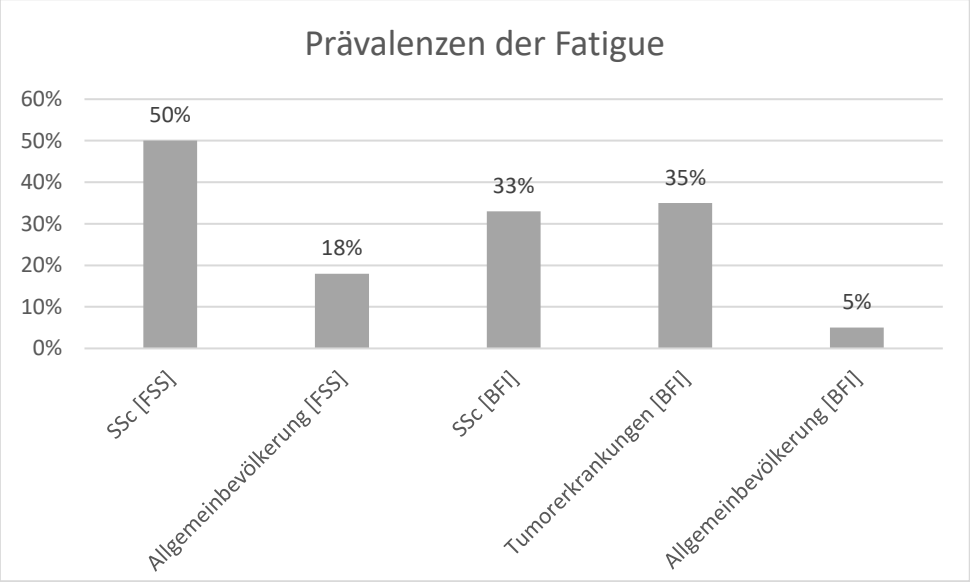
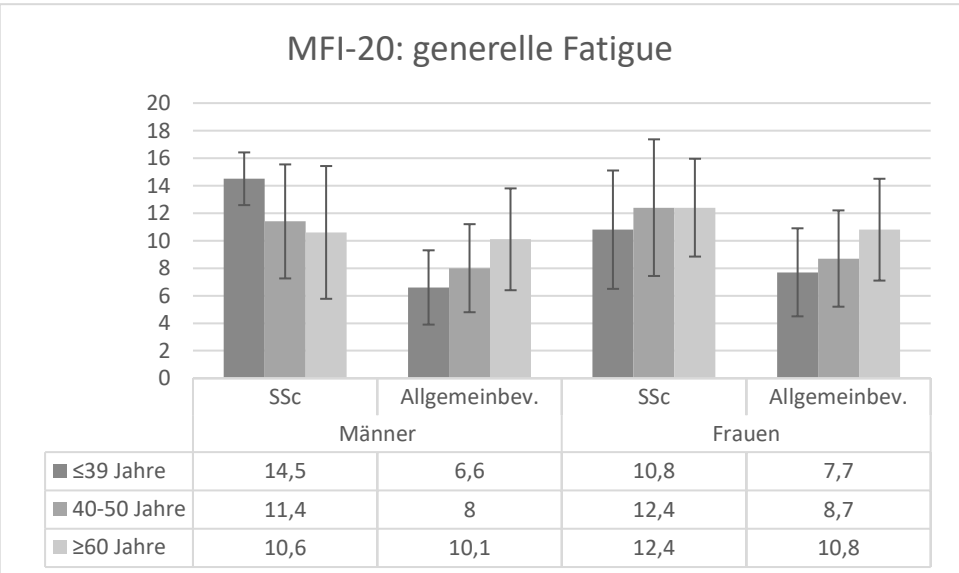


Abbildung 29
Prävalenzen der Fatigue gemessen mittels der Skala der stärksten Ermüdung des Brief Fatigue Inventory (BFI) in der untersuchten SSc-Kohorte, bei Tumorerkrankungen und in der Allgemeinbevölkerung (Valko et al., 2008) und Prävalenzen der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) in der untersuchten SSc-Kohorte und in der Allgemeinbevölkerung (Mendoza et al., 1999)

Demgegenüber hatte sich in der Allgemeinbevölkerung lediglich eine Prävalenz von 5 % ergeben (vgl. Abbildung 29) (Mendoza et al., 1999). Auch die Mittelwerte der Fatigue fielen in unserer Studie in allen drei Fragebögen höher aus als in entsprechenden Kontrollgruppen anderer Studien, mit 3,68 ± 1,74 vs. 3,00 ± 1,08 für die FSS und 3,3 ± 2,4 vs. 2,2 ± 1,8 für das BFI (Mendoza et al., 1999; Radbruch et al., 2003; Schwarz et al., 2003; Valko et al., 2008). Eine Besonderheit des MFI-20 besteht darin, dass die Dimensionen jeweils nach Altersgruppen und Geschlecht getrennt betrachtet wurden. Die jeweiligen Mittelwerte im



	Männer		Frauen	
	SSc	Allgemeinbev.	SSc	Allgemeinbev.
≤39 Jahre	14,5	6,6	10,8	7,7
40-50 Jahre	11,4	8	12,4	8,7
≥60 Jahre	10,6	10,1	12,4	10,8

Abbildung 30
Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der generellen Fatigue des MFI-20 in der untersuchten SSc-Kohorte und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003)

Vergleich zur Allgemeinbevölkerung sind in Abbildung 30 und Abbildung 37-40 im Anhang dargestellt (Schwarz et al., 2003). Die Differenz der Mittelwerte zwischen SSc-Kohorte und Allgemeinbevölkerung betrug im Mittel 3,2 ± 2,6 Punkte (min. -1,8; max. 9,4). Lediglich in der Gruppe der über 60-jährigen Männer lag die mentale Fatigue in der SSc-Kohorte sogar um -1,8 Punkte unter dem Wert der Allgemeinbevölkerung.

Insgesamt haben sich alle drei Fatigue-Fragebögen als grundsätzlich praktikabel erwiesen. Das MFI-20 bietet insbesondere den Vorteil der möglichen Abbildung verschiedener Dimensionen der Fatigue. Auffällig war jedoch die relativ geringe Anzahl korrekt ausgefüllter Fragebögen (89, 87 %). Neben lückenhaft ausgefüllten Fragebögen wurden mitunter auch inkonsistente Muster beim Ankreuzen beobachtet (z.B. bei Frage 14 „Ich hatte das Gefühl körperlich in schlechter Verfassung zu sein“ und Frage 20 „Ich hatte das Gefühl körperlich in ausgezeichneter Verfassung zu sein.“ jeweils 5 („nein stimmt nicht“) angekreuzt). Ersteres ist vermutlich auch auf die Länge, Letzteres vor allem auf die zur Vermeidung von Antworttendenzen vorgenommene balancierte Skalierung des Fragebogens zurückzuführen. Bei der Anwendung des MFI-20 sollte daher bei der Rekrutierungsstrategie ggf. bedacht werden, dass sich die Rücklaufquote nach Datenbereinigung deutlich reduzieren kann. Ich persönlich würde in nachfolgenden Studien mit Blick auf das Verhältnis zwischen Praktikabilität und Informationsgewinn das BFI verwenden.

4.2.2 Schlafstörungen und Tagesschläfrigkeit

In unserer Kohorte erwies sich mit 66 % ein überwiegender Teil der Pat. als schlechte Schläfer*innen. Dies deckt sich mit einer türkischen Studie, die 48 SSc Pat. einer Universitätsklinik untersuchte und in der sich 68,8 % der Untersuchten als schlechte Schläfer*innen erwiesen (Sariyildiz et al., 2013). Zudem war die Prävalenz von schlechtem Schlaf in unserer Kohorte fast doppelt so hoch wie in einer Stichprobe der deutschen Allgemeinbevölkerung (n = 9284), in der lediglich 36 % von Schlafproblemen betroffen waren (vgl. Abbildung 31) (Hinz et al., 2017). Auch eine US-amerikanische Studie, welche das Auftreten von Schlafstörungen bei 180 SSc Pat. mittels MOS-Sleep Scale (Medical Outcomes Study Sleep Scale) erfasst hatte, hatte zeigen können, dass SSc Pat. verglichen mit der US-amerikanischen Allgemeinbevölkerung deutlich schlechter schliefen (Frech et al., 2011). Zudem konnte gezeigt werden, dass Schlafstörungen in der deutschen Allgemeinbevölkerung bei Frauen häufiger auftreten als bei Männern (42,5 % vs. 27,7 %) (Hinz et al., 2017). Auch in unserer Kohorte war die Prävalenz von Schlafstörungen bei weiblichen Teilnehmenden höher

(65 %) als bei männlichen (58 %), jedoch waren im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung insbesondere die Männer überproportional häufig von Schlafstörungen betroffen (58 % vs. 27 %). Eine Erklärung könnte sein, dass männliches Geschlecht bei SSc häufig mit einem schweren Verlauf sowie schlechter Prognose einhergeht (Almeida et al., 2015). Tatsächlich sprechen Studien für eine SSc-spezifische Genese der Schlafstörungen. So haben sich Symptome wie Schmerzen, Juckreiz und gastrointestinale Beteiligung als mit Schlafstörungen assoziiert erwiesen (Frech et al., 2011; Prado et al., 2002; Racine et al., 2016). Schlafstörungen sind jedoch auch ein Symptom der Depression, die ebenfalls bei SSc häufig auftritt und könnten somit durch depressive Erkrankungen (mit)bedingt sein (Faezi et al., 2017).

Im Gegensatz zu den Schlafstörungen war in Bezug auf die Prävalenz erhöhter Tagesschläfrigkeit der Unterschied zwischen unserer Kohorte und der Allgemeinbevölkerung mit 31 % vs. 23 % weniger deutlich ausgeprägt (vgl. Abbildung 31) (Sander et al., 2016).

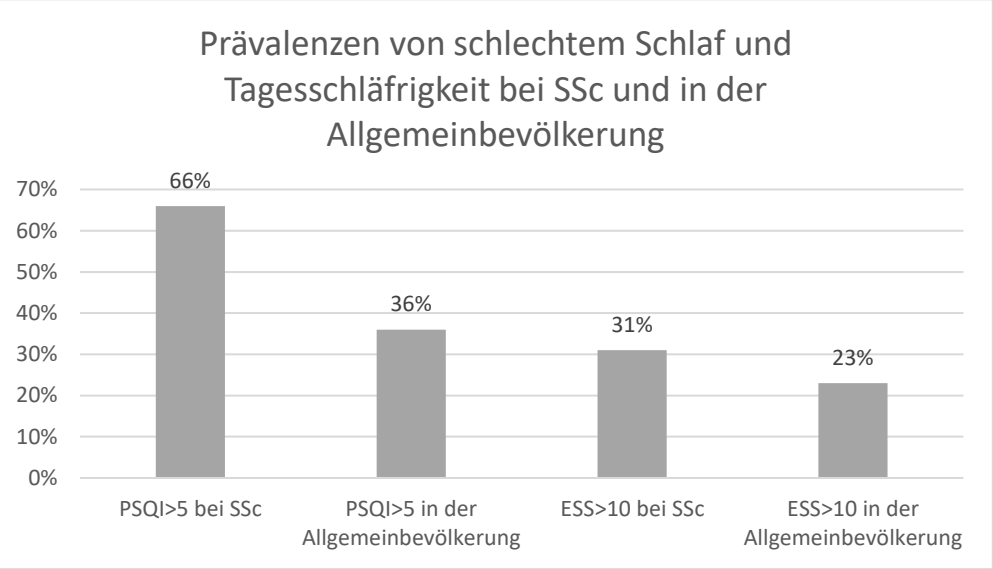


Abbildung 31
Prävalenzen von schlechtem Schlaf gemessen mittels Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) (Hinz et al., 2017) und erhöhter Tagesschläfrigkeit gemessen mittels Epworth Sleepiness Scale (ESS) in der untersuchten SSc-Kohorte im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Sander et al., 2016)

4.2.3 Depressivität und Angstsymptomatik

Der Mittelwert des PHQ-9 lag in unserer Kohorte mit 7,9 ± 6,1 unter dem von Pat. mit depressiven Störungen (11,7 ± 5,0), aber dennoch deutlich über dem der Allgemeinbevölkerung (3,56 ± 4,08) (Gräfe et al., 2004; Rief et al., 2004). Die Prävalenz (mindestens mittelgradiger) depressiver Symptomatik (PHQ-9 ≥ 10) war mit 36 % ebenfalls deutlich höher als

in der Allgemeinbevölkerung (7,2 %) (vgl. Abbildung 32). Dies ist plausibel, da anhand mehrerer Studien bereits ein Zusammenhang zwischen SSc und depressiven Symptomen gezeigt werden konnte. Die Prävalenzangaben schwanken jedoch und waren mit Werten zwischen 16,7 % und 68,4 % sogar teilweise deutlich höher ausgefallen als in unserer Studie (Benrud-Larson et al., 2002; Faezi et al., 2017; Kwakkenbos et al., 2015a; Roca et al., 1996). Unterschiede können auf die Methodik zurückzuführen sein. In den genannten Studien war meist das Beck-Depressions-Inventar (BDI) verwendet worden. Bei diesem handelt es sich um ein Instrument zur Ermittlung des Schweregrads einer Depression (Beck et al., 1961). Außerdem war in den genannten Studien mitunter auch eine nur milde depressive Symptomatik berücksichtigt worden. Dies entspräche im Falle des PHQ-9 einem Wert von ≥ 5 und ergäbe in unserer Studie eine Prävalenz von 63 %.

Die Angstsymptomatik war gemäß GAD-7 in unserer Kohorte mit im Mittel 7,4 ± 6,0 deutlich ausgeprägter als in der deutschen Allgemeinbevölkerung (2,95 ± 3,41) (Löwe et al. 2008). Insgesamt wiesen jeweils 14,3 % der Pat. eine mittelgradige und schwere Angstsymptomatik auf. In einer repräsentativen Stichprobe der Allgemeinbevölkerung waren es lediglich 4,1 % mit mittelgradiger und 1,0 % mit schwerer Angstsymptomatik, während die jeweilige Prävalenz bei allgemeinmedizinischen Pat. bei 14,4 % und 8,9 % und bei Pat. mit generalisierter Angststörung bei 41,5 % und 48,1 % lag (Löwe et al., 2008). Die Prävalenz mittelgradiger und schwerer Angstsymptomatik ist in unserer Kohorte somit zwar deutlich geringer als bei Pat. mit generalisierter Angststörung, jedoch deutlich höher als in der Allgemeinbevölkerung (vgl. Abbildung 33). Faezi et al. hatten mithilfe der „Cattell Anxiety Self-Assessment Scale“ mit einer Prävalenz von 49,1 % für moderate und 23,6 % für schwere

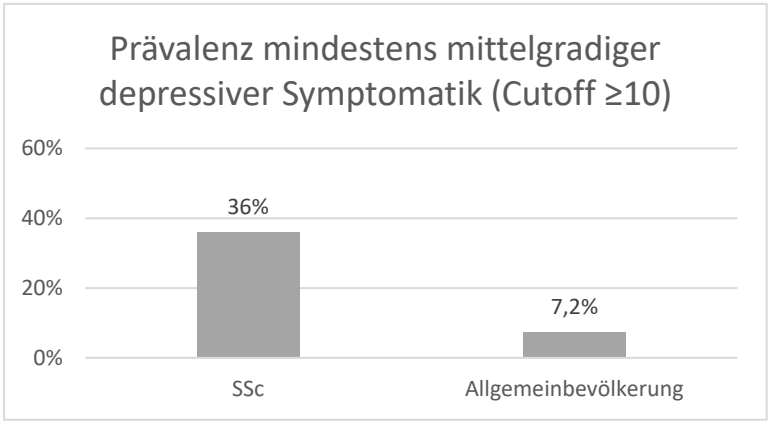


Abbildung 32
Prävalenz mindestens mittelgradiger depressiver Symptomatik in der untersuchten SSc-Kohorte (PHQ-9 ≥ 10) im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Rief et al., 2004)

Angstsymptomatik bei SSc deutlich höhere Werte als in unserer Kohorte gezeigt (Faezi et al., 2017). Dies könnte mitunter dadurch bedingt sein, dass in unserer Studie nur von 30 Pat. eine Angstsymptomatik erhoben werden konnte. Zudem wurde die Studie von Faezi et al. nicht in Deutschland durchgeführt und es wurde ein anderer Fragebogen als in unserer Studie verwendet.

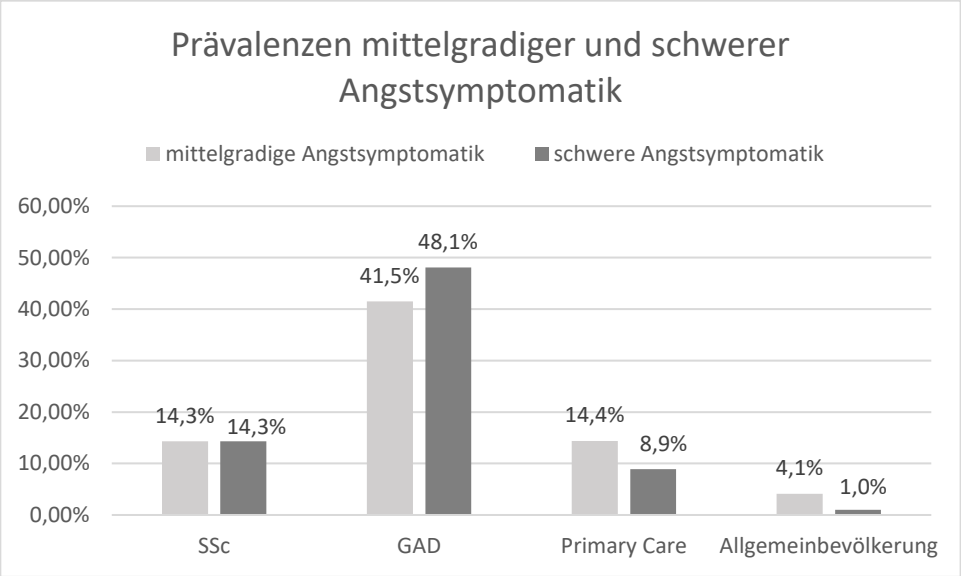


Abbildung 33
Prävalenz mittelgradiger und schwerer Angstsymptomatik in der untersuchten SSc-Kohorte gemessen mittels GAD-7 im Vergleich zu Pat. mit generalisierter Angststörung (GAD), zu allgemeinmedizinischen Pat. (Primary Care) sowie zur Allgemeinbevölkerung (Löwe et al., 2008)

4.3 Mit Fatigue assoziierte Variablen

4.3.1 Alter und Geschlecht

Die Literatur ist hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Alter und Fatigue uneindeutig (Levis et al., 2017; Schwarz et al., 2003; Valko et al., 2008). In unserer Studie konnte keine Korrelation der Fatigue mit dem Alter gesehen werden. Andererseits zeichnete sich beim Vergleich der ≤ 39-Jährigen mit den ≥ 60-Jährigen ein Unterschied der Mediane ab, mit tendenziell höheren Fatigue-Werten auf Seiten der ≤ 39-Jährigen. Dies kann darauf hindeuten, dass sehr junge Pat., die sich in einem eigentlich aktiven Lebensabschnitt befinden, subjektiv möglicherweise eine stärkere Beeinträchtigung durch Fatigue empfinden. Dazu passen Ergebnisse einer Studie, in der Schlafentzug in der Altersgruppe der 18-30-Jährigen zu stärkerer Beeinträchtigung insbesondere der Stimmung geführt hatte, als in der Gruppe der

60-72-Jährigen (Schwarz et al., 2019). Den größten Teil der Kohorte stellten in unserer Studie jedoch mit 52 % die 40-59-Jährigen, gefolgt von den ≥ 60-Jährigen mit 35 %, während die ≤ 39-Jährigen mit lediglich 13 % vertreten waren. Die insgesamt relativ homogene Altersverteilung könnte erklären, weshalb zumindest in der vorliegenden Studie kein wesentlicher Zusammenhang zwischen Alter und Fatigue gesehen werden konnte.

4.3.2 Klinische Manifestationen

Es zeigte sich keine Assoziation der Fatigue mit dem BMI. In der Vergangenheit hatten sich Gelenk- und Organbeteiligungen, insbesondere gastrointestinale und pulmonale Beteiligung als Korrelate der Fatigue bei SSc erwiesen (Basta et al., 2018). In unserer Studie zeigte sich nur gemessen mittels MFI und hier insbesondere in Bezug auf die physische Fatigue eine signifikante positive Assoziation zwischen Fatigue und Organbeteiligung. Dieser Trend zeigte sich jedoch auch für die FSS und das BFI (vgl. Abbildung 13). Lediglich gemessen mittels BFI und der Skala der reduzierten Motivation des MFI-20 zeigte sich eine positive Assoziation zwischen muskuloskelettaler Beteiligung und Fatigue, während sich dies mittels FSS und in den Skalen der generellen und physischen Fatigue des MFI-20 nicht bzw. nur deskriptiv darstellen ließ (vgl. Abbildung 14 & Abbildung 9). Auch zeigte sich keine Assoziation mit funktionsdiagnostischen Parametern oder Labormarkern der Organ- oder Muskelfunktion, oder mit der Hautbeteiligung. Die Ergebnisse sind insofern konsistent, als dass sich auch kein Unterschied zwischen Pat. mit dcSSc und lcSSc hinsichtlich der Fatigue zeigte sowie keine Assoziation der Fatigue mit immunsuppressiver Therapie oder der Krankheitsdauer. Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen klinischer Ausprägung sowie Progression der SSc und Fatigue ließ sich in dieser Studie somit nicht darlegen. Ggf. müsste hier erneut eine größere Stichprobe herangezogen werden. Da das Vorliegen einer Organbeteiligung und muskuloskelettalen Beteiligung zudem lediglich nach Aktenlage festgestellt wurde, sind deren Prävalenz und die nachfolgenden Analyseergebnisse möglicherweise verfälscht.

Im Hinblick auf Fatigue bei gleichzeitigem Vorliegen einer muskuloskelettalen Beteiligung bliebe zu differenzieren, inwieweit es sich hier um muskuläre Schwäche im Sinne einer physischen Fatigue handelt und inwieweit ggf. auch assoziierte Schmerzen und Schmerzmedikation eine Rolle spielen. In unserer Kohorte hatte sich im Einklang mit der Literatur eine stark positive Korrelation zwischen Fatigue und Schmerz gezeigt (Basta et al., 2018). Dessen Genese und Lokalisation sind in dieser Studie nicht weiter differenziert worden. Pat. mit

muskuloskelettaler Beteiligung gaben jedoch höhere maximale Schmerzwerte (Sch_{max}) an (vgl. Abbildung 8).

4.3.3 Schlafstörungen, Tagesschläfrigkeit, Depressivität und Angstsymptomatik

In der Literatur existieren vielfach Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Fatigue mit psychometrischen Parametern wie Depressivität, Angstsymptomatik und Schlafstörungen (Basta et al., 2018; Frech et al., 2011; Kwakkenbos et al., 2015a; Sandusky et al., 2009). In unserer Studie zeigte sich ebenfalls eine starke positive Korrelation der Fatigue mit den gemessenen psychometrischen Parametern, insbesondere mit Tagesschläfrigkeit, Depressivität und Angstsymptomatik. Da jedoch von bidirektionalen Beziehungen der psychometrischen Parameter ausgegangen werden muss und die Angstsymptomatik zudem bei lediglich 35 Pat. erhoben werden konnte, ist die Interpretation der Ergebnisse erschwert.

Als überraschend gering stellte sich die Korrelation der Fatigue mit der Schlafqualität dar. Dennoch zeigte sich in der Gruppe mit Schlafstörungen und erhöhter Tagesschläfrigkeit auch deutlich mehr Fatigue. Insbesondere gemessen mittels BFI wiesen nur Pat. mit Schlafstörungen sehr hohe Fatigue-Werte auf. Allerdings zeigte sich in Bezug auf die Fatigue eine Überlappung zwischen den Gruppen mit und ohne Schlafstörungen bzw. mit und ohne Tagesschläfrigkeit. Es ist unklar, inwieweit primäre Schlafstörungen zur Fatigue beigetragen haben. Mit Blick auf die hohe Korrelation zwischen Fatigue und Tagesschläfrigkeit ist letztlich auch ungewiss, wie sauber zwischen diesen Phänomenen mittels Fragebögen tatsächlich unterschieden werden kann. Eine Untersuchung der Schlafqualität im Schlaflabor sowie eine psychiatrische Diagnostik hinsichtlich depressiver Symptomatik könnten in Zukunft hilfreich sein, um besser definierte Gruppen zu erhalten.

4.3.4 Autoantikörper und weitere Immunparameter

In der Literatur sind erhöhte AAK-Titer gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren bei ME/CFS sowie eine positive Korrelation von Anti-M3 und Anti-M4 mit Fatigue bzw. Muskelschmerz bei ME/CFS Pat. mit Infekt-getriggertem Krankheitsbeginn beschrieben worden (Freitag et al., 2021; Loebel et al., 2016). Für die SSc konnte in unserer Studie jedoch keine signifikante Assoziation zwischen den gemessenen AAK und Fatigue gezeigt werden. Deskriptiv stellte sich jedoch erwartungsgemäß eine positive Assoziation zwischen Anti-M3, -M4 und -M5 und Fatigue dar. Möglicherweise lässt sich diese in einer zukünftigen Studie

mit größerer Stichprobe und mit mittels Schlaflabor und psychiatrischer Diagnostik charakterisierten Subgruppen auch statistisch zeigen. Zudem wären funktionelle Analysen notwendig, um zu untersuchen, ob und inwieweit AAK gegen mAChR bei Gesunden und Pat. mit SSc im Sinne funktioneller AAK wirken. Möglicherweise sind bei SSc jedoch auch andere Einflussfaktoren für die Entwicklung von Fatigue bedeutsamer.

CRP ist ein guter Marker für chronische Entzündungen, welche mit Fatigue einhergehen können (Dantzer et al., 2014). Ein Zusammenhang zwischen Fatigue und CRP konnte hier jedoch nicht nachgewiesen werden, wenngleich sich deskriptiv erwartungsgemäß eine positive Assoziation zeigte. Interessanterweise stellte sich jedoch eine jeweils negative Assoziation der Leukozyten-, Thrombozyten- und Neutrophilenzahl mit mehreren Fatigue-Scores dar. Im Folgenden wird nur auf die Thrombozytenzahl eingegangen, da diese als Einzige mit den globalen Fatigue-Scores von FSS und BFI assoziiert war.

Es zeigte sich eine negative Korrelation der Fatigue mit der Thrombozytenzahl sowie zwischen Depressivität und Thrombozytenzahl, wenngleich letzteres Ergebnis knapp nicht signifikant war ($r = -0{,}20$, $p = 0{,}050$). Zunächst wäre eine positive Korrelation zwischen Fatigue bzw. Depressivität und Thrombozytenzahl zu erwarten gewesen, da sich eine Thrombozytose u.a. bei Entzündungen findet, welche mit depressiven Symptomen und Fatigue im Sinne eines Krankheitsverhaltens einhergehen können (Besedovsky et al., 2019; Dantzer und Kelley, 2007; Schafer, 2004). Bei SSc sind jedoch sowohl vermehrte Thrombozytenaktivierung als auch -aggregation beschrieben, die zu einem Abfall der Thrombozytenzahl führen können (s.u.). Thrombozytenaktivierungsmarker korrelieren dabei mit der Krankheitsaktivität. Zudem sind Thrombozyten involviert bei der Ausbildung der Hauptmerkmale der SSc, nämlich Fibrose, Autoimmunität und Endothelschaden (Ramirez et al., 2012). Vermehrte Fatigue bei gleichzeitig geringerer Thrombozytenzahl durch Aktivierung könnte somit Ausdruck erhöhter Krankheitsaktivität sein (Scherlinger et al., 2018).

Ein Zusammenhang zwischen AAK gegen mAChR und den β_2-AdR und der Thrombozytenzahl ließ sich in unserer Studie nicht erkennen, wenngleich AdR und AChR nachweislich eine wichtige Rolle bei der Regulation der Thrombozytenfunktion spielen (Bennett et al., 2019; Slevin et al., 2018).

Eine Studie, die Thrombozytenaktivierungsmarker mittels Durchflusszytometrie bei Pat. mit Depression vor Beginn sowie 4 Wochen und 6 Monate nach dem Beginn einer Therapie

mit Antidepressiva und/oder Psychotherapie untersuchte, konnte jedoch interessanterweise ebenfalls eine erhöhte Thrombozytenaktivierung im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zeigen, welche mit der Schwere der Depression (gemessen mittels Montgomery Asberg Depression Rating Scale, MADRS) korrelierte und im Laufe der Therapie abnahm (Morel-Kopp et al., 2009). Zudem existieren in der Literatur weitere Hinweise auf Zusammenhänge zwischen Thrombozytenparametern (inkl. Thrombozytenzahl) und Depression sowie anderen psychiatrischen Erkrankungen (Bondade et al., 2018; Canan et al., 2012). Hierbei ist vor allem der Neurotransmitter Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) Gegenstand der Diskussion. Dieser spielt eine Rolle bei der Emotionsregulation und ist für die Pathogenese psychiatrischer Erkrankungen wie Depressionen und Angststörungen sowie bei der Regulierung des Schlaf-Wach-Rhythmus von Bedeutung (Brown et al., 2012; Zhuang et al., 2018). Obwohl es sich um einen Neurotransmitter handelt, wird 5-HT auch in der Peripherie synthetisiert und dort vorwiegend in Thrombozyten gespeichert. Diese wiederum exprimieren selbst Serotonintransporter (SERT) sowie Serotoninrezeptoren und setzen den Botenstoff bei Aktivierung frei (Schoenichen et al., 2019). Interessanterweise wird bei SSc das 5-HT aus Thrombozyten auch mit der Entstehung von Fibrose in Zusammenhang gebracht. Zudem zeigte sich 5-HT erhöht im Blut von SSc Pat. und deren Thrombozyten wiesen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Aktivierungsfaktoren wie 5-HT auf (Dees et al., 2011; Łukasik et al., 2018; Ramirez et al., 2012). Dies könnte auf eine Bedeutung des serotonergen Systems im Zusammenhang mit Fatigue und Depressivität bei SSc hinweisen. 5-HT-Rezeptoren (bestehend aus 7 Familien, $5\text{-}HT_1$-$5\text{-}HT_7$) gehören mit Ausnahme des $5\text{-}HT_3$-Rezeptors wie die muskarinergen und β-adrenergen Rezeptoren zur Familie der GPCR. AAK gegen 5-HT-Rezeptoren spielen somit möglicherweise im Rahmen eines Netzwerks funktioneller AAK gegen GPCR eine Rolle bei der Pathogenese der SSc (Cabral-Marques et al., 2018). Dabei könnten insbesondere $5\text{-}HT2_A$ und $5\text{-}HT2_B$ von Bedeutung sein. Diese binden $G_{q/11}$ und wirken vasokonstriktorisch sowie profibrotisch und verstärken die Thrombozytenaktivierung (Sagonas und Daoussis, 2021). Anders als beim SLE ist eine Thrombozytopenie bei SSc kein typisches Phänomen und es finden sich in der Literatur insgesamt nur wenige Hinweise darauf, dass SSc oder Fatigue mit einer reduzierten Thrombozytenzahl einhergehen (Kennedy et al., 2006; Roberts et al., 1998; Valentini et al., 1982). Da aktivierte Thrombozyten jedoch mit größerer Wahrscheinlichkeit abgebaut werden als nicht aktivierte, kann eine Thrombozytopenie bzw. geringere Thrombozytenzahl als indirekter Marker für deren Aktivierung angesehen werden (Scherlinger et al., 2018).

Grundsätzlich wären allerdings auch Therapieeffekte im Rahmen einer immunsuppressiven Therapie als Ursache für eine geringere Thrombozytenzahl denkbar. Im Mann-Whitney-U-Test ließ sich jedoch in dieser Kohorte kein Unterschied bezüglich der Thrombozytenzahl zwischen Pat. mit immunsuppressiver und ohne immunsuppressive Therapie nachweisen ($p = 0{,}825$).

Thrombozytenzahl, das serotonerge System sowie AAK gegen 5-HT-Rezeptoren bei SSc sollten Gegenstand zukünftiger Untersuchungen zur Genese der Fatigue sein.

4.4 Weitere Assoziationen der Autoantikörper

Alle AAK zeigten eine positive Korrelation untereinander. Wie bereits von Loebel et al. beschrieben, zeigte sich auch in dieser Kohorte die stärkste Korrelation zwischen Anti-M3 und -M4 und die schwächste Korrelation zwischen Anti-M1 und -M4 (Loebel et al., 2016). Die Korrelationen könnten Ausdruck eines komplexen regulatorischen Netzwerkes funktioneller AAK sein (Cabral-Marques et al., 2018). Möglich wäre jedoch auch eine durch Kreuzreaktion im ELISA bedingte Korrelation.

In unserer Kohorte zeigte sich keine Korrelation zwischen AAK und Alter. Dies könnte dadurch bedingt sein, dass die gemessenen AAK mit dem Gesamt-IgG assoziiert sind und zwischen Gesamt-IgG und Alter eine U-förmige Beziehung mit Minimum der IgG-Titer um das 65. Lebensjahr besteht (Khan et al., 2021; Loebel et al., 2016). Im Gruppenvergleich der ≤ 39-, 40-59 und ≥ 60-Jährigen stellte sich immerhin für Anti-M1 und -M2 ebenfalls ein solcher U-förmiger Trend dar (vgl. Abbildung 20).

Mit Blick auf geschlechtsspezifische Unterschiede zeigten Männer höhere Anti-M1- und Anti-M2-Titer als Frauen. Aufgrund der geringen Anzahl an Männern in der Kohorte bliebe zu untersuchen, ob sich dies in weiteren Studien mit größeren Kohorten reproduzieren lässt, und wenn ja, ob sich dieser Unterschied als SSc-spezifisch erweist, oder sich auch bei Gesunden findet. Eine Literaturrecherche ließ keine Berichte zu erhöhten Anti-M1- und Anti-M2-Titern bei Männern erkennen. In unveröffentlichten Daten stellten sich jedoch ebenfalls erhöhte Anti-M1-, -M2- und -M5- sowie erhöhte Anti-β_2-Titer bei männlichen Pat. dar (Sterner, 2022).

Ein möglicher Zusammenhang zwischen AAK gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren und Organbeteiligung bei SSc war nicht Hauptfragestellung dieser Studie, jedoch Untersuchungsgegenstand zweier weiterer Dissertationen der Arbeitsgruppe, die bisher noch nicht veröffentlicht wurden (Bittern, 2022; Sterner, 2022). Insgesamt ergaben sich jedoch in beiden Arbeiten sowie in der vorliegenden Arbeit positive Assoziationen von Anti-β_2, Anti-M1 und Anti-M2 mit Parametern der Krankheitsaktivität im Sinne einer Organbeteiligung (Sterner, 2022) sowie von Anti-β_2 mit der Hautbeteiligung (Bittern, 2022). Passend hierzu zeigten Pat. mit dcSSc höhere Anti-β_2- (Bittern, 2022; Sterner, 2022), -M1- und -M2-Titer (Sterner, 2022) als Pat. mit lcSSc und Pat. mit bestimmten immunsuppressiven Therapien höhere Anti-β_2-, -M1- und -M2-Titer (Sterner, 2022). Die Zusammenhänge zwischen AAK und CK-Werten konnten in den beiden Vorarbeiten nicht bestätigt werden (Bittern 2022; Sterner 2022). Die 102 Pat. der vorliegenden Arbeit überlappen dabei nicht bzw. nur zu einem geringen Anteil mit den Pat. der beiden anderen Studien (keine Überlappung mit den 71 Pat. der Studie von Bittern et al., 24 gemeinsame Pat. von insgesamt 177 Pat. der Studie von Sterner et al.).

Darüber hinaus zeigte sich in der vorliegenden Arbeit eine negative Assoziation von Anti-β_2, -M1 und -M2 mit der Lymphozytenzahl sowie passenderweise auch eine negative Assoziation der Organbeteiligung mit der Lymphozytenzahl. Dies ist im Einklang mit der Literatur, denn es konnte eine bei SSc Pat. im Vergleich zu Gesunden erniedrigte Lymphozytenzahl gezeigt werden und diese war assoziiert mit dem Vorliegen einer Lungenbeteiligung (Tezcan et al., 2020; Yayla et al., 2020). Die geringere Lymphozytenzahl kann in diesem Zusammenhang durch Therapieeffekte bedingt sein. Dies passt zu der Beobachtung, dass Pat. mit immunsuppressiver Therapie im Allgemeinen sowie Therapie mit Glukokortikoiden im Speziellen in unserer Studie auch geringere Lymphozytenzahlen aufwiesen als solche ohne diese Therapien. Eine mögliche Erklärung für die beschriebenen Assoziationen mit den AAK wäre demnach, dass Anti-β_2, Anti-M1 und Anti-M2 sowie die assoziierte geringere Lymphozytenzahl indirekt als Ausdruck der Krankheitsaktivität im Rahmen der SSc zu werten sind.

Denkbar wäre allerdings auch ein Effekt von Anti-β_2 auf die Mobilisierung und Migration von Lymphozyten als Erklärung für dessen negative Assoziation mit der Lymphozytenzahl (Benschop et al., 1996; Dimitrov et al., 2010). Es konnte gezeigt werden, dass IgG von Gesunden in der Lage ist, den β_2-AdR zu aktivieren (Hartwig et al., 2020). Eine mögliche Dys-

regulation des AAK-Netzwerks und der Interaktion zwischen Anti-β_2 und dem β_2-AdR könnten somit eine Störung der Lymphozytenhomöostase bei SSc bedingen. Allerdings wären funktionelle Analysen notwendig, um die potenzielle Wirkungsweise von Anti-β_2 bei SSc weiter zu untersuchen.

4.5 Limitationen

Die vorliegende Studie weist einige Einschränkungen auf. Zunächst ist das Fehlen einer Kontrollgruppe zu nennen, die – nach Alter und Geschlecht gematcht – es vermutlich ermöglicht hätte, die erhöhte Prävalenz der Fatigue bei SSc statistisch zu belegen. Auch sind einige denkbare oder aus der Literatur bekannte, mit Fatigue assoziierte Faktoren bei der Analyse nicht oder nur eingeschränkt berücksichtigt worden. So sind das Vorliegen von somatoformen Störungen sowie Persönlichkeitsmerkmale, Coping Skills und sozioökonomischer Status mit Blick auf den für Pat. zumutbaren Umfang der Erhebung nicht erfasst worden. Einige Parameter konnten nur in einer sehr geringen Anzahl der Fälle erhoben werden, da entweder in den Akten keine Informationen vorlagen (Fibromyalgiesyndrom, U1-RNP, Trop T) oder der Rücklauf gering war (Angstsymptomatik, n = 30) (Basta et al., 2018; Sandusky et al., 2009). Generell ist bei den aus den Arztbriefen erhobenen klinischen Parameter mit einer Unschärfe zu rechnen, da möglicherweise nicht alle Befunde explizit Erwähnung fanden und die Häufigkeit der auf diesem Weg erhobenen Daten somit falsch eingeschätzt worden sein kann. Insbesondere Angaben zu Organbeteiligung und Verlaufsform sind daher nur eingeschränkt aussagekräftig. Auch eine Beurteilung der Krankheitsaktivität war in den Arztbriefen nicht explizit erfasst. Als weitere Limitation kann die gewählte Methodik der Selbsteinschätzungsfragebögen gesehen werden, da diese aufgrund möglicher Antwortverzerrung eine diagnostische Unschärfe mit sich bringt. Allerdings existiert für Fatigue derzeit keine validierte objektive Messmethode.

Bei Pat. mit ME/CFS zeigten sich stärkere Korrelationen zwischen Fatigue-Symptomen und AAK, wenn letztere zum Gesamt-IgG in Beziehung gesetzt wurden (AAK-/IgG-Ratio) (Freitag et al., 2021). Dies konnte in unserer Studie nicht untersucht werden, da kein Gesamt-IgG bestimmt wurde. Zudem wurden die ELISA-Untersuchungen durch eine externe Firma mittels RUO-Verfahren durchgeführt. Die ELISA-Bestimmung wird jedoch nicht vergütet, sondern stellt eine wissenschaftliche Kooperation zwischen CellTrend und der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Riemekasten dar. Ergebnisse dieser Kooperation sind vielfach erfolgreich

publiziert worden (Cabral-Marques et al., 2018, 2022; Ernst et al., 2019; Freitag et al., 2021; Giil et al., 2018; Hartwig et al., 2020; Sotzny et al., 2022).

Hinsichtlich der statistischen Analysen ist als Limitation zu nennen, dass nicht für multiples Testen korrigiert wurde. Die Interpretation der p-Werte hinsichtlich Signifikanz ist aufgrund der Alphafehler-Kumulierung daher nur eingeschränkt möglich und die Ergebnisse müssen mittels weiterer Studien überprüft werden (Victor et al., 2010).

4.6 Schlussfolgerung

Diese Studie ist unseres Wissens die erste, die einen möglichen Zusammenhang zwischen Fatigue und AAK gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren bei SSc untersucht hat. Ein solcher Zusammenhang konnte hier jedoch nicht gezeigt werden. Interessanterweise stellte sich jedoch eine negative Assoziation zwischen Fatigue und Thrombozytenzahl dar. Möglicherweise spielt in diesem Zusammenhang der Neurotransmitter Serotonin eine Rolle, welcher sowohl bei psychiatrischen Erkrankungen wie der Depression, als auch bei SSc, bei der er u.a. für die Regulation der Thrombozytenfunktion und die Entwicklung von Fibrose bedeutsam ist, pathophysiologische Relevanz besitzt. Zukünftige Studien, die das serotonerge System bei SSc sowie AAK gegen serotonerge Rezeptoren untersuchen, könnten einen Beitrag zum besseren Verständnis der Fatigue bei SSc leisten.

Überdies hatte sich eine negative Assoziation zwischen Lymphozytenzahl und insbesondere Anti-β_2 gezeigt. Möglicherweise liegt hier ein Effekt von Anti-β_2 auf die Lymphozytenmigration und -mobilisation zu Grunde. Funktionelle Assays sind notwendig, um die potenzielle Wirkungsweise von Anti-β_2 bei SSc zu untersuchen.

Nicht zuletzt zeigt die Häufigkeit depressiver Symptome und deren enger Zusammenhang mit Fatigue bei SSc, dass psychiatrische Screening-Verfahren und ggf. weiterführende Diagnostik bei diesen Pat. sinnvoll sein können, um die Betroffenen frühzeitig identifizieren und ggf. eine Therapie einleiten zu können.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Fragestellung: Fatigue ist ein häufiges und beeinträchtigendes Phänomen bei systemischer Sklerose, ihre Pathophysiologie ist jedoch unzureichend verstanden. Beim chronischen Fatigue Syndrom sind Autoantikörper gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren beschrieben worden und diese korrelierten mit der Fatiguesymptomatik. Bei systemischer Sklerose zeigten sich diese Autoantikörper im Vergleich zu Gesunden ebenfalls verändert. Darüber, ob hier ein Zusammenhang mit Fatigue besteht, ist unseres Wissens bislang jedoch nichts bekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit ist daher die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen Autoantikörpern gegen muskarinerge und adrenerge Rezeptoren und Fatigue bei systemischer Sklerose. **Material und Methoden:** Im Rahmen einer Querschnittstudie erfolgte die psychometrische Charakterisierung von 101 Patient*innen mit systemischer Sklerose mittels standardisierter Fragebögen (FSS, BFI, MFI-20, PHQ-9, GAD-7, ESS, PSQI, Schmerzfragebogen). Parallel erfolgte die Bestimmung der Autoantikörpertiter gegen die Muskarinrezeptoren M1-M5 und den β_2-Adrenozeptor mittels enzyme-linked immunosorbent assay aus Serumproben der Teilnehmenden sowie die Erhebung klinischer Parameter durch Aktenrecherche. **Ergebnisse:** Ein Zusammenhang zwischen den gemessenen Autoantikörpern und Fatigue konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch eine negative Korrelation zwischen Fatigue und Thrombozytenzahl sowie zwischen Lymphozytenzahl und Anti-β_2, -M1 und -M2. **Diskussion:** Diese Studie ist unseres Wissens die erste, die einen Zusammenhang zwischen Fatigue und muskarinergen und adrenergen Autoantikörpern bei SSc untersucht hat. Ein solcher Zusammenhang konnte hier nicht gezeigt werden. Der negativen Assoziation zwischen Lymphozytenzahl und Autoantikörpern liegt jedoch möglicherweise ein Effekt von Anti-β_2 auf die Lymphozytenhomöostase zu Grunde. Funktionelle Assays sind notwendig, um die Wirkungsweise von Anti-β_2 bei SSc weiter zu untersuchen. Im Rahmen der negativen Assoziation zwischen Fatigue und Thrombozytenzahl spielt möglicherweise der Neurotransmitter Serotonin eine Rolle, welcher bei SSc mitunter für die Regulation der Thrombozytenfunktion und die Entwicklung von Fibrose pathophysiologische Relevanz besitzt und zudem bei psychiatrischen Erkrankungen wie der Depression bedeutsam ist. Zukünftige Studien, die das serotonerge System bei SSc sowie Autoantikörper gegen 5-HT-Rezeptoren untersuchen, könnten einen Beitrag zum besseren Verständnis der Fatigue bei systemischer Sklerose leisten.

6 Literaturverzeichnis

Almeida, C., Almeida, I., Vasconcelos, C. (2015). Quality of life in systemic sclerosis. Autoimmun Rev **14**, 1087–1096

AlOkda, A. M., Nasr, M. M., Amin, S. N. (2019). Between an ugly truth and a perfect lie: Wiping off fearful memories using beta-adrenergic receptors antagonists. J Cell Physiol **234**, 5722–5727

Bassel, M., Hudson, M., Taillefer, S. S., Schieir, O., Baron, M., Thombs, B. D. (2011). Frequency and impact of symptoms experienced by patients with systemic sclerosis: Results from a Canadian National Survey. Rheumatology **50**, 762–767

Basta, F., Afeltra, A., Margiotta, D. P. E. (2018). Fatigue in systemic sclerosis: a systematic review. Clin Exp Rheumatol **36 Suppl 113**, 150–160

Baum, E., Donner-Banzhoff, N., Maisel, P. (2017). S3-Leitlinie Müdigkeit (Zugriff vom 11.09.2019). https://www.degam.de/files/Inhalte/Leitlinien-Inhalte/Dokumente/DEGAM-S3-Leitlinien/053-002_Leitlinie Muedigkeit/Aktuelle Fassung 2018/053-002l_LL_Muedigkeit_180423_online22-05-18.pdf

Beck, A. T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mock, J., Erbaugh, J. (1961). An Inventory for Measuring Depression. Arch Gen Psychiatry **4**, 561–571

Bennett, J. A., Ture, S. K., Schmidt, R. A., Mastrangelo, M. A., Cameron, S. J., Terry, L. E., Yule, D. I., Morrell, C. N., Lowenstein, C. J. (2019). Acetylcholine inhibits platelet activation. J Pharmacol Exp Ther **369**, 182–187

Benrud-Larson, L. M., Haythornthwaite, J. A., Heinberg, L. J., Boling, C., Reed, J., White, B., Wigley, F. M. (2002). The impact of pain and symptoms of depression in scleroderma. Pain **95**, 267–275

Benschop, R. J., Rodriguez-Feuerhahn, M., Schedlowski, M. (1996). Catecholamine-induced leukocytosis: Early observations, current research, and future directions. Brain Behav Immun **10**, 77–91

Besedovsky, L., Lange, T., Haack, M. (2019). The sleep-immune crosstalk in health and disease. Physiol Rev **99**, 1325–1380

Bittern, H. (2022). Charakterisierung neuer Autoantikörper gegen G-Protein gekoppelte

Rezeptoren, Wachstumsfaktoren und Wachstumsfaktor-Rezeptoren bei der Systemischen Sklerose. Med. Diss. Lübeck, 2022

Bockaert, J., Pin, J. P. (1999). Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. EMBO J **18**, 1723–1729

Bondade, S., Seema, H. S., Shivakumar, B. K. (2018). Mean Platelet Volume in Depression and Anxiety Disorder- a Hospital Based Case-control Study. INDJ **11**, 1–8

Brown, R. E., Basheer, R., McKenna, J. T., Strecker, R. E., McCarley, R. W. (2012). Control of sleep and wakefulness. Physiol Rev **92**, 1087–1187

Buysse, D. J., Reynolds 3rd, C. F., Monk, T. H., Berman, S. R., Kupfer, D. J. (1989). The pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research. Psychiatry Res **28**, 193–213

Bylund, D. B., Eikenberg, D. C., Hieble, J. P., Langer, S. Z., Lefkowitz, R. J., Minneman, K. P., Molinoff, P. B., Ruffolo, R. R. J., Trendelenburg, U. (1994). International Union of Pharmacology Nomenclature of Adrenoceptors. Pharmacol Rev **46**, 121–136

Bynke, A., Julin, P., Gottfries, C.-G., Heidecke, H., Scheibenbogen, C., Bergquist, J. (2020). 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 Behav Immun Health **7**, 100107

Cabral-Marques, O., Halpert, G., Schimke, L. F., Ostrinski, Y., Vojdani, A., Baiocchi, G. C., Freire, P. P., Filgueiras, I. S., Zyskind, I., Lattin, M. T., Tran, F., Schreiber, S., Marques, A. H. C., Plaça, D. R., Fonseca, D. L. M., Humrich, J. Y., Müller, A., Giil, L. M., Graßhoff, H., Schumann, A., Hackel, A., Junker, J., Meyer, C., Ochs, H. D., Lavi, Y. B., Scheibenbogen, C., Dechend, R., Jurisica, I., Schulze-Forster, K., Silverberg, J. I., Amital, H., Zimmerman, J., Heidecke, H., Rosenberg, A. Z., Riemekasten, G., Shoenfeld, Y. (2022). Autoantibodies targeting GPCRs and RAS-related molecules associate with COVID-19 severity. Nat Commun **13** (**1**), 1220

Cabral-Marques, O., Marques, A., Giil, L. M., De Vito, R., Rademacher, J., Günther, J., Lange, T., Humrich, J. Y., Klapa, S., Schinke, S., Schimke, L. F., Marschner, G., Pitann, S., Adler, S., Dechend, R., Müller, D. N., Braicu, I., Sehouli, J., Schulze-Forster, K., Trippel, T., Scheibenbogen, C., Staff, A., Mertens, P. R., Löbel, M., Mastroianni, J., Plattfaut, C.,

Gieseler, F., Dragun, D., Engelhardt, B. E., Fernandez-Cabezudo, M. J., Ochs, H. D., Al-Ramadi, B. K., Lamprecht, P., Mueller, A., Heidecke, H., Riemekasten, G. (2018). GPCR-specific autoantibody signatures are associated with physiological and pathological immune homeostasis. Nat Commun **9**, 5224

Cabral-Marques, O., Riemekasten, G. (2017). Functional autoantibodies targeting G protein-coupled receptors in rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol **13**, 648–656

Canan, F., Dikici, S., Kutlucan, A., Celbek, G., Coskun, H., Gungor, A., Aydin, Y., Kocaman, G. (2012). Association of mean Platelet volume with DSM-IV major depression in a large community-based population : The MELEN study. J Psychiatr Res **46**, 298–302

Carpenter, J. S., Andrykowski, M. A. (1998). Psychometric evaluation of the pittsburgh sleep quality index. J Psychosom Res **45**, 5–13

Cella, D., Davis, K., Breitbart, W., Curt, G., & Fatigue Coalition (2001). Cancer-related fatigue: Prevalence of proposed diagnostic criteria in a United States sample of cancer survivors. J Clin Oncol **19**, 3385–3391

CellTrend. (2022a). Qualitätsmanagement (Zugriff vom 04.11.2022). https://www.celltrend.de/firmenprofil/qualitaetsmanagement/

CellTrend. (2022b). Research Use Only (Zugriff vom 04.11.2022). https://www.celltrend.de/elisa/research-use-only/

Chaudhuri, A., Majeed, T., Dinan, T., Behan, P. O. (1997). Chronic fatigue syndrome: A disorder of central cholinergic transmission. J Chronic Fatigue Syndr **3**, 3–16

Dantzer, R., Heijnen, C. J., Kavelaars, A., Laye, S., Capuron, L. (2014). The Neuroimmune Basis of Fatigue. Trends Neurosci **37**, 39–46

Dantzer, R., Kelley, K. W. (2007). Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. Brain Behav Immun **21**, 153–160

Dees, C., Akhmetshina, A., Zerr, P., Reich, N., Palumbo, K., Horn, A., Jüngel, A., Beyer, C., Krönke, G., Zwerina, J., Reiter, R., Alenina, N., Maroteaux, L., Gay, S., Schett, G., Distler, O., Distler, J. H. W. (2011). Platelet-derived serotonin links vascular disease and tissue fibrosis. J Exp Med **208**, 961–972

Deutsche Fatigue Gesellschaft e.V. (2018). Was ist Fatigue? (Zugriff vom 11.09.2019).

https://deutsche-fatigue-gesellschaft.de/fatigue/was-ist-fatigue/

Dimitrov, S., Lange, T., Born, J. (2010). Selective mobilization of cytotoxic leukocytes by epinephrine. J Immunol **184**, 503–511

Elenkov, I. J., Wilder, R. L., Chrousos, G. P., Vizi, E. S. (2000). The sympathetic nerve − an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. Pharmacol Rev **52**, 595–638

Ernst, D., Westerbergh, J., Sogkas, G., Jablonka, A., Ahrenstorf, G., Schmidt, R. E., Heidecke, H., Wallentin, L., Riemekasten, G., Witte, T. (2019). Lowered anti-beta1 adrenergic receptor antibody concentrations may have prognostic significance in acute coronary syndrome. Sci Rep **9**, 14552

Faezi, S. T., Paragomi, P., Shahali, A., Akhlaghkhah, M., Akbarian, M., Akhlaghi, M., Kheirandish, M., Gharibdoost, F. (2017). Prevalence and severity of depression and anxiety in patients with systemic sclerosis: An epidemiologic survey and investigation of clinical correlates. J Clin Rheumatol **23**, 80–86

Fluge, Ø., Risa, K., Lunde, S., Alme, K., Rekeland, I. G., Sapkota, D., Kristoffersen, E. K., Sørland, K., Bruland, O., Dahl, O., Mella, O. (2015). B-lymphocyte depletion in myalgic encephalopathy/chronic fatigue syndrome. An open-label phase II study with rituximab maintenance treatment. PLoS One **10**, e0129898

Frech, T., Hays, R. D., Maranian, P., Clements, P. J., Furst, D. E., Khanna, D. (2011). Prevalence and correlates of sleep disturbance in systemic sclerosis − results from the UCLA scleroderma quality of life study. Rheumatology **50**, 1280–1287

Freitag, H., Szklarski, M., Lorenz, S., Sotzny, F., Bauer, S., Philippe, A., Kedor, C., Grabowski, P., Lange, T., Riemekasten, G., Heidecke, H., Scheibenbogen, C. (2021). Autoantibodies to Vasoregulative G-Protein-Coupled Receptors Correlate with Symptom Severity, Autonomic Dysfunction and Disability in Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome. J Clin Med **10**, 3675

Garland, S. L. (2013). Are GPCRs Still a Source of New Targets? J Biomol Screen **18**, 947–966

Geppetti, P., Veldhuis, N. A., Lieu, T., Bunnett, N. W. (2015). G Protein-Coupled Receptors: Dynamic Machines for Signaling Pain and Itch. Neuron **88**, 635–649

Giil, L. M., Aarsland, D., Hellton, K., Lund, A., Heidecke, H., Schulze-Forster, K., Riemekasten, G., Vik-Mo, A. O., Kristoffersen, E. K., Vedeler, C. A., Nordrehaug, J. E. (2018). Antibodies to Multiple Receptors are Associated with Neuropsychiatric Symptoms and Mortality in Alzheimer's Disease: A Longitudinal Study. J Alzheimers Dis **64**, 761–774

Giil, L. M., Vedeler, C. A., Kristoffersen, E. K., Nordrehaug, J. E., Heidecke, H., Dechend, R., Schulze-Forster, K., Muller, D. N., Von Goetze, V. S., Cabral-Marques, O., Riemekasten, G., Vogelsang, P., Nygaard, S., Lund, A., Aarsland, D. (2017). Antibodies to Signaling Molecules and Receptors in Alzheimer's Disease are Associated with Psychomotor Slowing, Depression, and Poor Visuospatial Function. J Alzheimers Dis **59**, 929–939

Gleicher, N., Barad, D., Weghofer, A. (2007). Functional autoantibodies, a new paradigm in autoimmunity? Autoimmun Rev **7**, 42–45

Goodchild, C. E., Treharne, G. J., Booth, D. A., Kitas, G. D., Bowman, S. J. (2008). Measuring fatigue among women with Sjögren's syndrome or rheumatoid arthritis: A comparison of the Profile of Fatigue (ProF) and the Multidimensional Fatigue Inventory (MFI). Musculoskeletal Care **6**, 31–48

Gräfe, K., Zipfel, S., Herzog, W., Löwe, B. (2004). Screening psychischer Störungen mit dem „Gesundheitsfragebogen für Patienten (PHQ-D)": Ergebnisse der deutschen Validierungsstudie. Diagnostica **50**, 171–181

Günther, J., Rademacher, J., Van Laar, J. M., Siegert, E., Riemekasten, G. (2015). Functional autoantibodies in systemic sclerosis. Semin Immunopathol **37**, 529–42

Harms, V. (2012). Spearmanscher Rangkorrelationskoeffizient. In Harms, V. (Hrsg.), Medizinische Statistik (8. Aufl., 188–189), HARMS, Kempten

Harrel, F. E. J. (2021). Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.6-0. (Zugriff vom 28.12.2021). https://cran.r-project.org/package=Hmisc

Hartung, K., Seelig, H. P. (2006). Labordiagnostik der systemischen autoimmunerkrankungen. Teil I: Kollagenosen. Z Rheumatol **65**, 709–724

Hartwig, J., Sotzny, F., Bauer, S., Heidecke, H., Riemekasten, G., Dragun, D., Meisel, C., Dames, C., Grabowski, P., Scheibenbogen, C. (2020). IgG stimulated β2 adrenergic receptor activation is attenuated in patients with ME/CFS. Brain Behav Immun Health **3**, 100047

Hinz, A., Glaesmer, H., Brähler, E., Löffler, M., Engel, C., Enzenbach, C., Hegerl, U., Sander, C. (2017). Sleep quality in the general population: psychometric properties of the Pittsburgh Sleep Quality Index, derived from a German community sample of 9284 people. Sleep Med **30**, 57–63

Ibn Yacoub, Y., Amine, B., Bensabbah, R., Hajjaj-Hassouni, N. (2012). Assessment of fatigue and its relationships with disease-related parameters in patients with systemic sclerosis. Clin Rheumatol **31**, 655–660

Jahns, R., Boivin, V., Siegmund, C., Inselmann, G., Lohse, Martin, M.J., Boege, F. (1999). Autoantibodies Activating Human β1-Adrenergic Receptors Are Associated With Reduced Cardiac Function in Chronic Heart Failure. Circulation **99**, 649–654

Jetschmann, J.-U., Benschop, R. J., Jacobs, R., Kemper, A., Oberbeck, R., Schmidt, R. E., Schedlowski, M. (1997). Expression and in-vivo modulation of α- and β-adrenoceptors on human natural killer (CD16+) cells. J Neuroimmunol **74**, 159–164

Johns, M. W. (1991). A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth Sleepiness Scale. Sleep **14**, 540–545

Johns, M. W. (1992). Reliabiltiy and factor analysis of the epworth sleepiness scale. Sleep **15**, 376–381

Johns, M. W. (1994). Sleepiness in different situations measured by the epworth sleepiness scale. Sleep **17**, 703–710

Johns, M. W. (2000). Sensitivity and specificity of the multiple sleep latency test (MSLT), the maintenance of wakefulness test and the epworth sleepiness scale: failure of the MSLT as a gold standard. J Sleep Res **9**, 5–11

Kavelaars, A., Kuis, W., Knook, L., Sinnema, G., Heijnen, C. J. (2000). Disturbed Neuroendocrine-Immune Interactions in Chronic Fatigue Syndrome. J Clin Endocrinol Metab **85**, 692–696

Kawashima, K., Fujii, T. (2004). Expression Of Non-Neuronal Acetylcholine In Lymphocytes And Its Contribution To The Regulation Of Immune Function. Front Biosci **9**, 2063–2085

Kaynak, H., Altintaş, A., Kaynak, D., Uyanik, Ö., Saip, S., Ağaoğlu, J., Önder, G., Siva, A. (2006). Fatigue and sleep disturbance in multiple sclerosis. Eur J Neurol **13**, 1333–1339

Kennedy, G., Norris, G., Spence, V., Mclaren, M., Belch, J. J. F. (2006). Is chronic fatigue syndrome associated with platelet activation? Blood Coagul Fibrinolysis **17**, 89–92

Kenney, M. J., Ganta, C. K. (2014). Autonomic Nervous System and Immune System Interactions. Compr Physiol **4**, 1177–1200

Khan, S. R., Chaker, L., Ikram, M. A., Peeters, R. P., van Hagen, P. M., Dalm, V. A. S. H. (2021). Determinants and Reference Ranges of Serum Immunoglobulins in Middle-Aged and Elderly Individuals: a Population-Based Study. J Clin Immunol **41**, 1902–1914

Khanna, D., Furst, D. E., Clements, P. J., Allanore, Y., Baron, M., Czirjak, L., Distler, O., Foeldvari, I., Kuwana, M., Matucci-Cerinic, M., Mayes, M., Medsger Jr, T., Merkel, P. A., Pope, J. E., Seibold, James, R., Steen, V., Stevens, W., & Denton, C. P. (2017). Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. J Scleroderma Relat Disord **2**, 11–18

Kroenke, K., Spitzer, R. L., Williams, J. B. W. (2001). The PHQ-9: Validity of a Brief Depression Severity Measure. J Gen Intern Med **16**, 606–613

Kroenke, K., Spitzer, R. L., Williams, J. B. W., Monahan, P. O., Löwe, B. (2007). Anxiety Disorders in Primary Care : Prevalence , Impairment, Comorbidity, and Detection. Ann Intern Med **146**, 317–325

Kroenke, K., Spitzer, R. L. (2002). The PHQ-9: A New Depression Diagnostic and Severity Measure. Psychiatr Ann **32**, 509–515

Krupp, L. B., LaRocca, N. G., Muir-Nash, J., Steinberg, A. D. (1989). The Fatigue Severity Scale: Application to Patients With Multiple Sclerosis and Systemic Lupus Erythematosus. Arch Neurol **46**, 1121–1123

Kruse, A. C., Kobilka, B. K., Gautam, D., Sexton, P. M., Christopoulos, A., Wess, J. (2014). Muscarinic acetylcholine receptors: novel opportunities for drug development. Nat Rev Drug Discov **13**, 549–560

Kwakkenbos, L., Delisle, V. C., Fox, R. S., Gholizadeh, S., Jewett, L. R., Levis, B., Milette, K., Mills, S. D., Malcarne, V. L., Thombs, B. D. (2015a). Psychosocial Aspects of Scleroderma. Rheum Dis Clin North Am **41**, 519–528

Kwakkenbos, L., Minton, O., Stone, P. C., Alexander, S., Baron, M., Hudson, M., Thombs, B.

D., and the Canadian Scleroderma Research Group, Group, and the C. S. R. (2015b). Can the Cancer-related Fatigue Case-definition Criteria Be Applied to Chronic Medical Illness? A Comparison between Breast Cancer and Systemic Sclerosis. J Rheumatol **42**, 1156–1162

Lefaucheur, C., Viglietti, D., Bouatou, Y., Philippe, A., Pievani, D., Aubert, O., Duong Van Huyen, J. P., Taupin, J. L., Glotz, D., Legendre, C., Loupy, A., Halloran, P. F., Dragun, D. (2019). Non-HLA agonistic anti-angiotensin II type 1 receptor antibodies induce a distinctive phenotype of antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. Kidney Int **96**, 189–201

Levis, B., Kwakkenbos, L., Hudson, M., Baron, M., Thombs, B. D., and the Canadian Scleroderma Research Group. (2017). The association of sociodemographic and objectively-assessed disease variables with fatigue in systemic sclerosis: an analysis of 785 Canadian Scleroderma Research Group Registry patients. Clin Rheumatol **36**, 373–379

Li, H., Murphy, T., Zhang, L., Huang, B., Veitla, V., Scherlag, B. J., Kem, D. C., Yu, X. (2016). β1-adrenergic and M2 muscarinic autoantibodies and thyroid hormone facilitate induction of atrial fibrillation in male rabbits. Endocrinology **157**, 16–22

Loebel, M., Grabowski, P., Heidecke, H., Bauer, S., Hanitsch, L. G., Wittke, K., Meisel, C., Reinke, P., Volk, H.-D., Fluge, O., Mella, O., Scheibenbogen, C. (2016). Antibodies to β adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in patients with Chronic Fatigue Syndrome. Brain Behav Immun **52**, 32–39

Löwe, B., Decker, O., Müller, S., Brähler, E., Schellberg, D., Herzog, W., Herzberg, P. Y. (2008). Validation and standardization of the generalized anxiety disorder screener (GAD-7) in the general population. Med Care **46**, 266–274

Löwe, B., Gräfe, K., Zipfel, S., Witte, S., Loerch, B., Herzog, W. (2004a). Diagnosing ICD-10 depressive episodes: Superior criterion validity of the Patient Health Questionnaire. Psychother Psychosom **73**, 386–390

Löwe, B., Spitzer, R. L., Gräfe, K., Kroenke, K., Quenter, A., Zipfel, S., Buchholz, C., Witte, S., Herzog, W. (2004b). Comparative validity of three screening questionnaires for DSM-IV depressive disorders and physicians' diagnoses. J Affect Disord **78**, 131–140

Łukasik, Z. M., Makowski, M., Makowska, J. S. (2018). From blood coagulation to innate and adaptive immunity: the role of platelets in the physiology and pathology of autoimmune

disorders. Rheumatol Int **38**, 959–974

Martínez-Martínez, L. A., Mora, T., Vargas, A., Fuentes-Iniestra, M., Martínez-Lavín, M. (2014). Sympathetic nervous system dysfunction in fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, irritable bowel syndrome, and interstitial cystitis: A review of case-control studies. J Clin Rheumatol **20**, 146–150

Mehra, S., Walker, J., Patterson, K., Fritzler, M. J. (2013). Autoantibodies in systemic sclerosis. Autoimmun Rev **12**, 340–354

Mendoza, T. R., Wang, X. S., Cleeland, C. S., Morrissey, M., Johnson, B. A., Wendt, J. K., Huber, S. L. (1999). The rapid assessment of fatigue severity in cancer patients: Use of the brief fatigue inventory. Cancer **85**, 1186–1196

Milara, J., Cervera, A., de Diego, A., Sanz, C., Juan, G., Gavaldà, A., Miralpeix, M., Morcillo, E., Cortijo, J. (2016). Non-neuronal cholinergic system contributes to corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease patients. Respir Res **17**, 145

Milette, K., Hudson, M., Baron, M., Thombs, B. D., Canadian Scleroderma Research Group. (2010). Comparison of the PHQ-9 and CES-D depression scales in systemic sclerosis: internal consistency reliability, convergent validity and clinical correlates. Rheumatology **49**, 789–796

Mollayeva, T., Thurairajah, P., Burton, K., Mollayeva, S., Shapiro, C. M., Colantonio, A. (2016). The Pittsburgh sleep quality index as a screening tool for sleep dysfunction in clinical and non-clinical samples: A systematic review and meta-analysis. Sleep Med Rev **25**, 52–73

Morel-Kopp, M. C., McLean, L., Chen, Q., Tofler, G. H., Tennant, C., Maddison, V., Ward, C. M. (2009). The association of depression with platelet activation : evidence for a treatment effect. J Thromb Haemost **7**, 573–581

Mukherjee, M., Nair, P. (2018). Autoimmune responses in severe asthma. Allergy Asthma Immunol Res **10**, 428–447

Nacul, L., Authier, F. J., Scheibenbogen, C., Lorusso, L., Helland, I. B., Martin, J. A., Sirbu, C. A., Mengshoel, A. M., Polo, O., Behrends, U., Nielsen, H., Grabowski, P., Sekulic, S., Sepulveda, N., Estévez-López, F., Zalewski, P., Pheby, D. F. H., Castro-Marrero, J., Sakkas, G. K., Capelli, E., Brundsdlund, I., Cullinan, J., Krumina, A., Bergquist, J., Murovska, M., Vermuelen, R. C. W., Lacerda, E. M. (2021). European Network on Myalgic

Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (EUROMENE): Expert Consensus on the Diagnosis, Service Provision, and Care of People with ME/CFS in Europe. Medicina **57**, 510

Nakai, A., Suzuki, K. (2019). Adrenergic control of lymphocyte trafficking and adaptive immune responses. Neurochem Int **130**, 104320

Nathanson, N. M. (2000). A multiplicity of muscarinic mechanisms: Enough signaling pathways to take your breath away. PNAS **97**, 6245–6247

Orjatsalo, M., Alakuijala, A., Partinen, M. (2018). Autonomic Nervous System Functioning Related to Nocturnal Sleep in Patients With Chronic Fatigue Syndrome Compared to Tired Controls. J Clin Sleep Med **14**, 163–171

Overman, C. L., Kool, M. B., Da Silva, J. A. P., Geenen, R. (2016). The prevalence of severe fatigue in rheumatic diseases: an international study. Clin Rheumatol **35**, 409–415

Petzke, F., Hüppe, M., Kohlmann, T., Kükenshöner, S., Lindena, G., Pfingsten, M., Nagel, N. (2020). Handbuch Deutscher Schmerz-Fragebogen (Zugriff vom 17.11.2022). https://www.schmerzgesellschaft.de/fileadmin/pdf/DSF_Handbuch_2020.pdf

Prado, G. F., Allen, R. P., Trevisani, V. M. F., Toscano, V. G., Earley, C. J. (2002). Sleep disruption in systemic sclerosis (scleroderma) patients: clinical and polysomnographic findings. Sleep Med **3**, 341–345

Puri, B. K., Counsell, S. J., Zaman, R., Main, J., Collins, A. G., Hajnal, J. V., Davey, N. J. (2002). Relative increase in choline in the occipital cortex in chronic fatigue syndrome. Acta Psychiatr Scand **106**, 224–226

R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing (Zugriff vom 28.12.2021). https://www.r-project.org/

Racine, M., Hudson, M., Baron, M., Nielson, W. R., Pope, J., Markland, J., Robinson, D., Jones, N., Khalidi, N., Docherty, P., Kaminska, E., Masseto, A., Sutton, E., Mathieu, J. P., Ligier, S., Grodzicky, T., Thorne, C., Gyger, G., Smith, D., Fortin, P. R., Larché, M. (2016). The Impact of Pain and Itch on Functioning and Health-Related Quality of Life in Systemic Sclerosis: An Exploratory Study. J Pain Symptom Manage **52**, 43–53

Radbruch, L., Sabatowski, R., Elsner, F., Everts, J., Mendoza, T., Cleeland, C. (2003). Validation of the german version of the brief fatigue inventory. J Pain Symptom Manage

25, 449–458

Ramirez, G. A., Franchini, S., Rovere-Querini, P., Sabbadini, M. G., Manfredi, A. A., Maugeri, N. (2012). The role of platelets in the pathogenesis of systemic sclerosis. Front Immunol **3**, 1–6

Razani-Boroujerdi, S., Behl, M., Hahn, F. F., Pena-Philippides, J. C., Hutt, J., Sopori, M. L. (2008). Role of muscarinic receptors in the regulation of immune and inflammatory responses. J Neuroimmunol **194**, 83–88

Ream, E., Richardson, A. (1997). Fatigue in patients with cancer and chronic obstructive airways disease: A phenomenological enquiry. Int J Nurs Stud **34**, 44–53

Reinsmoen, N. L., Lai, C.-H., Heidecke, H., Haas, M., Cao, K., Ong, G., Naim, M., Wang, Q., Mirocha, J., Kahwaji, J., Vo, A. A., Jordan, S. C., Dragun, D. (2010). Anti-angiotensin type 1 receptor antibodies associated with antibody mediated rejection in donor HLA antibody negative patients. Transplantation **90** (**12**), 1473–1477

Rief, W., Nanke, A., Klaiberg, A., Braehler, E. (2004). Base rates for panic and depression according to the Brief Patient Health Questionnaire: A population-based study. J Affect Disord **82**, 271–276

Roberts, T. K., Mcgregor, N. R., Dunstan, R. H., Donohoe, M., Murdoch, R. N., Hope, D., Zhang, S., Butt, H. L., Watkins, J. A., Taylor, W. G., Roberts, T. K., Mcgregor, N. R., Dunstan, R. H., Donohoe, M., Murdoch, R. N., Hope, D., Zhang, S., Butt, H. L., Watkins, J. A. (1998). Immunological and Haematological Parameters in Patients with Chronic Fatigue Syndrome. J Chronic Fatigue Syndr **4**, 51–65

Roca, R. P., Wigley, F. M., White, B. (1996). Depressive symptoms associated with scleroderma. Arthritis Rheum **39**, 1035–1040

Sagonas, I., Daoussis, D. (2021). Serotonin and systemic sclerosis. An emerging player in pathogenesis. Joint Bone Spine **89**, 105309

Sander, C., Hegerl, U., Wirkner, K., Walter, N., Kocalevent, R.-D., Petrowski, K., Glaesmer, H., Hinz, A. (2016). Normative values of the epworth sleepiness scale (ESS), derived from a large German sample. Sleep Breath **20**, 1337–1345

Sanders, V. M., Straub, R. H. (2002). Norepinephrine, the β-adrenergic receptor, and

immunity. Brain Behav Immun **16**, 290–332

Sandusky, S. B., McGuire, L., Smith, M. T., Wigley, F. M., Haythornthwaite, J. A. (2009). Fatigue: An overlooked determinant of physical function in scleroderma. Rheumatology **48**, 165–169

Sariyildiz, M. A., Batmaz, I., Budulgan, M., Bozkurt, M., Yazmalar, L., Inanir, A., Celepkolu, T., Cevik, R. (2013). Sleep quality in patients with systemic sclerosis: relationship between the clinical variables, depressive symptoms, functional status, and the quality of life. Rheumatol Int **33**, 1973–1979

Sauter, C., Popp, R., Danker-Hopfe, H., Büttner, A., Wilhelm, B., Binder, R., Böhning, W., Weeß, H.-G., Society, and the Vigilance Task Group of the German Sleep Research Society (2007). Normative values of the german epworth sleepiness scale: results from a multicenter study. Somnologie **11**, 272–278

Scanzano, A., Cosentino, M. (2015). Adrenergic regulation of innate immunity: A review. Front Pharmacol **6**, 171

Schafer, A. I. (2004). Thrombocytosis. N Engl J Med **350**, 1211–1219

Scheibenbogen, C., Loebel, M., Freitag, H., Krueger, A., Bauer, S., Antelmann, M., Doehner, W., Scherbakov, N., Heidecke, H., Reinke, P., Volk, H.-D., Grabowski, P. (2018). Immunoadsorption to remove ß2 adrenergic receptor antibodies in Chronic Fatigue Syndrome CFS/ME. PLoS One **13**, e0193672

Scheibenbogen, C., Volk, H. D., Grabowski, P., Wittke, K., Giannini, C., Hoffmeister, B., Hanitsch, L. (2014). Chronisches Fatigue-Syndrom: Heutige Vorstellung zur Pathogenese, Diagnostik und Therapie. tägl prax **55**, 567–574

Scherbaum, I., Heidecke, H., Bunte, K., Peters, U., Beikler, T., Boege, F. (2020). Autoantibodies against M5-muscarinic and beta1-adrenergic receptors in periodontitis patients. Aging (Albany NY) **12**, 16609–16620

Scherlinger, M., Guillotin, V., Truchetet, M. E., Contin-Bordes, C., Sisirak, V., Duffau, P., Lazaro, E., Richez, C., Blanco, P. (2018). Systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis: All roads lead to platelets. Autoimmun Rev **17**, 625–635

Schoenichen, C., Bode, C., Duerschmied, D. (2019). Role of platelet serotonin in innate

immune cell recruitment. Front Biosci **24**, 514–526

Schubert, C. (2011). Sickness behavior und immunologisch vermittelte Depression. In Schubert, C. (Hrsg.), Psychoneuroimmunologie und Psychotherapie (1. Aufl., 93-97). Schattauer, Stuttgart

Schwarz, J., Axelsson, J., Gerhardsson, A., Tamm, S., Fischer, H., Kecklund, G., Åkerstedt, T. (2019). Mood impairment is stronger in young than in older adults after sleep deprivation. J Sleep Res **28**, e12801

Schwarz, R., Krauss, O., Hinz, A. (2003). Fatigue in the general population. Onkologie **26**, 140–144

Seidel, F., Scheibenbogen, C., Heidecke, H., Opgen-Rhein, B., Pickardt, T., Klingel, K., Berger, F., Messroghli, D., Schubert, S. (2022). Compensatory Upregulation of Anti-Beta-Adrenergic Receptor Antibody Levels Might Prevent Heart Failure Presentation in Pediatric Myocarditis. Front Pediatr **10**, 881208

Seitz, H., Bühringer, G., Mann, K. (2008). Grenzwerte für den Konsum alkoholischer Getränke: Empfehlungen des wissenschaftlichen Kuratoriums der DHS. in Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e.V. (Hrsg.). Jahrbuch Sucht 2008. Neuland, Geesthacht, 205–209

Skiba, M. A., Kruse, A. C. (2021). Autoantibodies as Endogenous Modulators of GPCR Signaling. Trends Pharmacol Sci **42**, 135–150

Slevin, M., Iemma, R. S., Zeinolabediny, Y., Liu, D., Ferris, G. R., Caprio, V., Phillips, N., Di Napoli, M., Guo, B., Zeng, X., AlBaradie, R., Binsaleh, N. K., McDowell, G., Fang, W. H. (2018). Acetylcholine Inhibits Monomeric C-Reactive Protein Induced Inflammation, Endothelial Cell Adhesion, and Platelet Aggregation: A Potential Therapeutic? Front Immunol **9**, 2124

Smets, E. M. A., Garssen, B., Bonke, B., De Haes, J. C. J. M. (1995). The multidimensional fatigue inventory (MFI): Psychometric qualities of an instrument to asses fatigue. J Psychosom Res **39**, 315–325

Smets, E. M. A., Garssen, B., Cull, A., De Haes, J. C. J. M. (1996). Application of the multidimensional fatigue inventory (MFI-20) in cancer patients receiving radiotherapy. Br J Cancer **73**, 241–245

Soares, M. B. P., Pontes-De-Carvalho, L., Ribeiro-Dos-Santos, R. (2001). The pathogenesis of Chagas' disease: when autoimmune and parasite-specific immune responses meet. An Acad Bras Cienc **73**, 546–559

Sotzny, F., Filgueiras, I. S., Kedor, C., Freitag, H., Wittke, K., Bauer, S., Sepúlveda, N., Mathias da Fonseca, D. L., Baiocchi, G. C., Marques, A. H. C., Kim, M., Lange, T., Plaça, D. R., Luebber, F., Paulus, F. M., De Vito, R., Jurisica, I., Schulze-Forster, K., Paul, F., Bellmann-Strobl, J., Rust, R., Hoppmann, U., Shoenfeld, Y., Riemekasten, G., Heidecke, H., Cabral-Marques, O., Scheibenbogen, C. (2022). Dysregulated autoantibodies targeting vaso- and immunoregulatory receptors in Post COVID Syndrome correlate with symptom severity. Front Immunol **13**, 981532

Spence, V. A., Khan, F., Kennedy, G., Abbot, N. C., Belch, J. J. F. (2004). Acetylcholine mediated vasodilatation in the microcirculation of patients with chronic fatigue syndrome. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **70**, 403–407

Spitzer, R. L., Kroenke, K., Williams, J. B. W., Löwe, B. (2006). A brief measure for assessing generalized anxiety disorder. Arch Intern Med **166**, 1092–1097

Stavrakis, S., Yu, X., Patterson, E., Huang, S., Hamlett, S., Chalmers, L., Pappy, R., Cunningham, M. W., Morshed, S. A., Davies, T. F., Lazarra, R., Kem, D. C. (2009). Activating autoantibodies to the beta1-adrenergic and M2 muscarinic receptors facilitate atrial fibrillation in patients with Graves' hyperthyroidism. J Am Coll Cardiol **54**, 1309–1316

Stebbings, S., Treharne, G. J. (2010). Fatigue in rheumatic disease: An overview. Int J Clin Rheumatol **5**, 487–502

Steriade, M., Amzica, F., Nunez, A. (1993). Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow (approximately 0.3 Hz) oscillation in neocortical cells. J Neurophysiol **70**, 1385–1400

Sterner, K. (2022). Netzwerksignaturen neuer Autoantikörper gegen G-Protein-gekoppelte Rezeptoren und verwandte Moleküle bei Erkrankungsmanifestationen der systemischen Sklerose. Med. Diss. Lübeck, 2022

Swain, M. G. (2000). Fatigue in chronic disease. Clin Sci **99**, 1–8

Takamori, M., Motomura, M., Fukudome, T., Yoshikawa, H. (2007). Autoantibodies against M1 muscarinic acetylcholine receptor in myasthenic disorders. Eur J Neurol **14**, 1230–1235

Talvani, A., Rocha, M. O. C., Ribeiro, A. L., Borda, E., Sterin-Borda, L., Teixeira, M. M. (2006). Levels of anti-M2 and anti-β1 autoantibodies do not correlate with the degree of heart dysfunction in Chagas' heart disease. Microbes Infect **8**, 2459–2464

Tanaka, M., Mizuno, K., Tajima, S., Sasabe, T., Watanabe, Y. (2009). Central nervous system fatigue alters autonomic nerve activity. Life Sci **84**, 235–239

Tarlov, A. R., Ware, J. E., Greenfield, S., Nelson, E. C., Perrin, E., Zubkoff, M. (1989). The Medical Outcomes Study: An Application of Methods for Monitoring the Results of Medical Care. JAMA **262**, 925–930

Tezcan, D., Turan, Ç., Yılmaz, S., Sivrikaya, A., Gülcemal, S., Limon, M., Ecer, B. (2020). What do simple hematological parameters tell us in patients with systemic sclerosis ? Acta Dermatovenerol **29**, 101–107

Thombs, B. D., Hudson, M., Bassel, M., Taillefer, S. S., Baron, M., Markland, J., Pope, J., Robinson, D., Jones, N., Docherty, P., Abu-Hakima, M., Khalidi, N. A., Le Clercq, S., Sutton, E., Smith, C. D., Kaminska, E., Mathieu, J. P., Rahman, P., Ligier, S. (2009). Sociodemographic, disease, and symptom correlates of fatigue in systemic sclerosis: Evidence from a sample of 659 canadian scleroderma research group registry patients. Arthritis Rheum **61**, 966–973

Tocut, M., Halpert, G., Tsur, A. M., Sharif, K., Heidecke, H., Levy, Y., Watad, A., Amital, H., Shoenfeld, Y. (2022). Cognitive Impairment, Sleep Disturbance, and Depression in Women with Silicone Breast Implants: Association with Autoantibodies against Autonomic Nervous System Receptors. Biomolecules **12**, 776

Tomer, Y., Schoenfeld, Y. (1988). The Significance of Natural Autoantibodies. Immunol Invest **17**, 389–424

Valentini, G., Chianese, U., Tirri, G., Giordano, M. (1982). Thrombocytosis and thrombocytopenia in rheumatic diseases. Ann Rheum Dis **41**, 437

Valko, P. O., Bassetti, C. L., Bloch, K. E., Held, U., Baumann, C. R. (2008). Validation of the Fatigue Severity Scale in a Swiss Cohort. Sleep **31**, 1601–1607

Van Den Hoogen, F., Khanna, D., Fransen, J., Johnson, S. R., Baron, M., Tyndall, A., Matucci-Cerinic, M., Naden, R., Riemekasten, G., Gabrielli, A., Distler, O., Van Laar, J. M. (2013). Classification Criteria for Systemic Sclerosis: An ACR-EULAR Collaborative Initiative.

Arthritis Rheum **65**, 2737–2747

Varga, J. (2018). Systemic sclerosis (scleroderma) and related disorders. In Jameson, J., Fauci, A. S., Kasper, D. L., Hauser, S. L., Longo, D. L., Loscalzo, J. (Hrsg.), Harrisons's principles of internal medicine (20. Aufl.) McGraw-Hill, New York

Venter, C. J., Fraser, C. M., Harrison, L. C. (1980). Autoantibodies to β2-adrenergic receptors: a possible cause of adrenergic hyporesponsiveness in allergic rhinitis and asthma. Science **207**, 1361–1363

Victor, A., Elsäßer, A., Hommel, G., Blettner, M. (2010). Judging a plethora of p-values: How to contend with the problem of multiple testing. Part 10 of a series on evaluation of scientific publications. Dtsch Arztebl Int **107**, 50–56

Weeß, H.-G. (2013). Diagnostische Methoden. In Stuck, B. A., Maurer, J. T., Schredl, M., Weeß, H.-G. (Hrsg.), Praxis der Schlafmedizin (2. Aufl., 25-28). Springer, Berlin

Wei, T., Simko, V. (2017). R package „corrplot": Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). (Zugriff vom 28.12.2021). https://github.com/taiyun/corrplot

Weigold, F., Günther, J., Pfeiffenberger, M., Cabral-Marques, O., Siegert, E., Dragun, D., Philippe, A., Regensburger, A. K., Recke, A., Yu, X., Petersen, F., Catar, R., Biesen, R., Hiepe, F., Burmester, G. R., Heidecke, H., Riemekasten, G. (2018). Antibodies against chemokine receptors CXCR3 and CXCR4 predict progressive deterioration of lung function in patients with systemic sclerosis. Arthritis Res Ther **20**, 52

Weiß, C. (2013). U-Test von Mann und Whitney. in Weiß, C., Rzany, B. (Hrsg.). Basiswissen Medizinische Statistik. Springer, Berlin Heidelberg, 6. Aufl. 190–191

Wess, J., Eglen, R. M., Gautam, D. (2007). Muscarinic acetylcholine receptors: Mutant mice provide new insights for drug development. Nat Rev Drug Discov **6**, 721–733

Wessler, I., Kirkpatrick, C. (2008). Acetylcholine beyond neurons: The non-neuronal cholinergic system in humans. Br J Pharmacol **154**, 1558–1571

Wise, M. S. (2006). Objective measures of sleepiness and wakefulness: Application to the real world? J Clin Neurophysiol **23**, 39–49

Yayla, M. E., İlgen, U., Okatan, İ. E., UsluYurteri, E., Torgutalp, M., Keleşoğlu Dinçer, A. B., Aydemir Gülöksüz, E. G., Sezer, S., Turgay, T. M., Kınıklı, G., Ateş, A. (2020). Association of

simple hematological parameters with disease manifestations, activity, and severity in patients with systemic sclerosis. Clin Rheumatol **39**, 77–83

Yu, X., Patterson, E., Stavrakis, S., Huang, S., De Aos, I., Hamlett, S., Cunningham, M. W., Lazarra, R., Kem, D. C. (2009). Development of cardiomyopathy and atrial tachyarrhythmias associated with activating autoantibodies to beta-adrenergic and muscarinic receptors. J Am Soc Hypertens **3**, 133–140

Zhuang, X., Xu, H., Fang, Z., Xu, C., Xue, C., Hong, X. (2018). Platelet serotonin and serotonin transporter as peripheral surrogates in depression and anxiety patients. Eur J Pharmacol **834**, 213–220

7 Anhang

7.1 Tabellen und Abbildungen

Tabelle 4
Referenzwerte der Laborparameter des Zentrallabors des Instituts für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein | CRP = C-reaktives Protein; NT-proBNP = N-terminales B-Typ natriuretisches Peptid; TSH = Thyreoidea- stimulierendes Hormon | https://www.uksh.de/klinische-chemie/Analysenverzeichnis.html [Zugriff vom 27.12.2021]

Laborparameter	Alter [Jahre]	männlich	weiblich
(Differential-)Blutbild			
Hämoglobin [g/dl]	19-50	13.5 - 17.2	12.0 - 15.4
	51-65	13.5 - 17.2	12.0 - 15.6
	66-199	12.5 - 17.2	11.8 - 15.8
Thrombozyten [x10^9/l]	19-65	150 - 370	
	66-199	160 - 370	
Leukozyten [x10^9/l]	19-65	3.9 - 10.2	
	66-199	3.6 - 10.5	
Neutrophile [x10^9/l]	19-199	1.5 - 7.7	
Lymphozyten [x10^9/l]	19-65	1.1 - 4.5	
	66-199	1.1 - 4.0	
Elektrolyte und Enzyme			
Natrium [mmol/l]	≤199	136 - 145	
Kalium [mmol/l]	≤199	3.50 - 4.50	3.40 - 4.40
Kreatinin [µmol/l]	16-199	59 - 104	45 - 84
Creatinkinase [U/l]	3-199	< 190	< 170
CRP [mg/l]	≤199	< 5.0	
NT-proBNP [ng/l]	19-44	< 86	< 130
	45-54	< 121	< 249
	55-64	< 210	< 287
	65-74	< 376	< 301
	75-199	< 486	< 738
Troponin T [ng/l]	≤199	≤14	
TSH [mIU/l]	22-199	0.3 - 3.18	0.3 - 3.94

Tabelle 5
Funktionsdiagnostische Parameter der SSc-Kohorte | VC = Vitalkapazität; FVC = forcierte Vitalkapazität; TLCO = Kohlenmonoxid-Transferfaktor; EF = Ejektionsfraktion; sPAP = systolischer pumlonalarterieller Druck

VC [%], M (SD)	83 (20)
FVC [%], M (SD)	82 (24)
TLCO [%], M (SD)	78 (23)
EF<53%, n (%)	4 (7,7%)
sPAP >35mmHg, n (%)	7 (29%)

Tabelle 6
Medikamenteneinnahme der SSc-Kohorte zum Zeitpunkt der Datenerhebung
IVIG = intravenöse Immunglobuline; MTX = Methotrexat; MMF = Mycophenolatmofetil

Ambrisentan, n (%)	1 (0,98)	Ilomedin, n (%)	50 (49,0)
Antiarrhythmika, n (%)	3 (2,9)	Immunsuppressive Therapie gesamt, n (%)	61 (59,8)
Anticholinergika, n (%)	3 (2,9)	Interferone, n (%)	0 (0)
Antidepressiva, n (%)	6 (5,9)	IVIG, n (%)	3 (2,9)
Antihistaminika, n (%)	0 (0)	Macitentan, n (%)	2 (2,0)
Antihypertensiva/Diuretika, n (%)	51 (50,0)	MMF, n (%)	4 (3,9)
Azathioprin, n (%)	10 (9,8)	MTX, n (%)	26 (25,5)
Benzodiazepine, n (%)	0 (0)	Neuroleptika, n (%)	0 (0)
Betablocker, n (%)	11 (10,8)	Opioide, n (%)	7 (6,9)
β2-Sympathomimetika, n (%)	9 (8,8)	Quensyl, n (%)	33 (32,4)
Bosentan, n (%)	25 (24,5)	Rituximab, n (%)	7 (6,9)
Calciumantagonisten, n (%)	22 (21,6)	Selexipag, n (%)	1 (0,98)
Cholinergika, n (%)	0 (0)	Sildenafil, n (%)	11 (10,8)
Ciclosporin A, n (%)	6 (5,9)	Steroide, n (%)	25 (24,5)
Cyclophosphamid, n (%)	12 (11,8)	Tadalafil, n (%)	0 (0)
Domperidon, n (%)	2 (2,0)	Triptane, n (%)	0 (0)

Tabelle 7
Noxengebrauch in der SSc-Kohorte | M = Mittelwert; SD = Standardabweichung

Nikotinkonsum oder Z.n. Nikotinkonsum, n (%)	55 (53,9%)
Packyears, M (SD)	7,1 (11,6)
riskanter Alkoholkonsum, n (%)	3 (2,9%)
Drogenkonsum, n (%)	1 (1%)

Tabelle 8
Für das Brief Fatigue Inventory (BFI) ermittelte Lageparameter | SD = Standardabweichung | IQR = Interquartilsabstand; M = Mittelwert

	n	Mittelwert± SD	Median (IQR)	Spannweite
Jetzige Ermüdung	99	3,3 ±2,6	3,0 (4,0)	0-9
Übliche Ermüdung	98	3,7± 2,6	4,0 (3,0)	0-9
Stärkste Ermüdung	97	5,1± 3,2	5,0 (5,5)	0-10
Grade der Beeinträchtigung:				
Allgemeine Aktivität	97	3,3 ±2,6	3,0 (4,5)	0-9
Stimmung	98	3,1± 2,7	3,0 (5,0)	0-9
Gehvermögen	98	2,7± 2,7	2,0 (5,0)	0-10
Normale Arbeit	97	3,4± 2,8	3,0 (5,5)	0-9
Beziehung zu anderen Menschen	98	2,5± 2,7	2,0 (4,0)	0-10
Lebensfreude	98	2,9± 2,9	2,0 (5,0)	0-10
BFI_M	98	3,3± 2,4	3,22 (3,56)	0-9

Tabelle 9
Für das MFI-20 ermittelte Lageparameter getrennt nach Alter und Geschlecht | SD = Standardabweichung; IQR = Interquartilsabstand

	Männer			Frauen			gesamt
Alter in Jahren	**≤39**	**40-59**	**≥60**	**≤39 Jahre**	**40-59**	**≥60**	
General Fatigue							
n	4	12	7	8	39	27	96
Mittelwert	14,5	11,4	10,6	10,8	12,4	12,4	12,1
SD	1,9	4,1	4,8	4,3	5,0	3,6	4,3
Median (IQR)	15,0 (3,0)	11,5 (6,0)	10,0 (8,0)	12,0 (7,5)	13,0 (7,0)	13,0 (4,0)	13,0 (7,0)
Spannweite	12-16	5-18	4-18	5-16	4-20	4-19	4-20
Physical Fatigue							
n	4	12	7	8	39	27	97
Mittelwert	15,5	12,5	12,4	11,6	11,9	12,2	12,2
SD	2,6	1,9	3,4	5,1	4,2	3,1	3,7
Median (IQR)	15,0 (4,0)	12,0 (1,0)	13,0 (3,0)	11,5 (7,5)	13,0 (4,0)	13,0 (5,0)	13,0 (3,5)
Spannweite	13-19	11-18	7-18	4-19	4-20	4-18	4-20
Reduced Activity							
n	4	12	7	7	39	26	95
Mittelwert	14,5	12,0	10,9	11,4	11,8	11,9	11,9
SD	1,9	2,8	4,1	6,0	4,7	4,0	4,2
Median (IQR)	15,0 (3,0)	11,0 (4,5)	9,0 (7,0)	11 (13,0)	12,0 (9,0)	13,0 (6,0)	12,0 (6,0)
Spannweite	12-16	8-17	5-16	5-19	4-20	4-17	4-20
Reduced Motivation							
n	4	12	7	8	39	27	97
Mittel	13,0	10,4	9,7	9.3	9,5	10,4	10,0
SD	2,9	2,8	3,5	3,6	3,4	3,3	3,3
Median (IQR)	13,0 (5,0)	10,0 (2,5)	9,0 (7,0)	8,5 (5)	9,0 (5,0)	10,0 (6,0)	10,0 (4,0)
Spannweite	10-16	5-15	5-14	4-15	4-18	4-16	4-18
Mental Fatigue							
n	4	12	7	8	39	27	97
Mittel	13,3	10,2	6,9	9,6	9,9	9,6	9,7
SD	1,7	3,9	2,5	4,1	4,6	4,3	4,2
Median (IQR)	13,5 (2,5)	9,5 (4,5)	6,0 (1,0)	9,0 (3,5)	9,0 (7,0)	11,0 (9,0)	9,0 (6,5)
Spannweite	11-15	5-18	4-12	4-18	4-20	4-18	4-20

Tabelle 10
Korrelation der Fatigue mit dem Alter | FSS=Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert**;** $MFI\text{-}20_{gen}$= Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue; $MFI\text{-}20_{phys}$= Multidimensional Fatigue Inventory, physical fatigue; $MFI\text{-}20_{act}$= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced activity; $MFI\text{-}20_{mot}$= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced motivation; $MFI\text{-}20_{ment}$= Multidimensional Fatigue Inventory, mental fatigue

		FSS	**BFI_M**	**$MFI\text{-}20_{gen}$**	**$MFI\text{-}20_{phys}$**	**$MFI\text{-}20_{act}$**	**$MFI\text{-}20_{mot}$**	**$MFI\text{-}20_{ment}$**
	r	-0,16	-0,09	0,01	0,05	-0,03	-0,01	-0,13
Alter	**p**	0,111	0,357	0,896	0,660	0,806	0,953	0,193
	n	101	98	97	97	95	97	97

Tabelle 11
Korrelationen der Fatigue-Fragebögen untereinander | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt
FSS=Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert**;** $MFI\text{-}20_{gen}$= Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue; $MFI\text{-}20_{phys}$= Multidimensional Fatigue Inventory, physical fatigue; $MFI\text{-}20_{act}$= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced activity; $MFI\text{-}20_{mot}$= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced motivation; $MFI\text{-}20_{ment}$= Multidimensional Fatigue Inventory, mental fatigue

		FSS	**BFI_M**	**$MFI\text{-}20_{gen}$**	**$MFI\text{-}20_{phys}$**	**$MFI\text{-}20_{act}$**	**$MFI\text{-}20_{mot}$**	**$MFI\text{-}20_{ment}$**
FSS	**r**	1,00	**0,74**	0,70	0,53	0,60	0,46	0,58
	P	.	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	101	**97**	96	96	94	96	96
BFI_M	**r**	**0,74**	1,00	0,73	0,58	0,57	0,56	0,69
	p	**<0,001**	.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	**97**	98	96	96	94	96	96

Tabelle 12

Korrelationen der erhobenen Fragebogenparameter untereinander | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt | FSS=Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert**;** MFI-20_{gen}= Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue; ESS = Epworth Sleepiness Scale; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7; Sch_{mom} = momentaner Schmerz; $Sch_{übl}$ = üblicher Schmerz; Sch_{max} = maximaler Schmerz

		FSS	BFI_M	MFI-20_{gen}	ESS	PSQI	PHQ-9	GAD-7	Sch_{mom}	$Sch_{übl}$	Sch_{max}
FSS	r	1,00	**0,74**	0,70	0,53	0,34	0,63	0,61	0,42	0,43	0,43
	p	.	**<0,001**	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	101	**97**	96	99	97	97	34	96	95	95
BFI_M	r	0,74	1,000	0,73	0,60	0,51	**0,76**	0,67	0,44	0,46	0,46
	p	<0,001	.	<0,001	<0,001	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	97	98	96	97	96	**97**	34	96	95	95
MFI-20_{gen}	r	0,70	**0,73**	1,000	0,49	0,46	0,69	0,70	0,34	0,47	0,47
	p	<0,001	**<0,001**	.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
	n	96	**96**	97	96	95	96	32	95	94	94
ESS	r	0,53	**0,60**	0,49	1,000	0,26	0,55	0,29	0,36	0,39	0,39
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	.	0,010	<0,001	0,095	<0,001	<0,001	<0,001
	n	99	**97**	96	100	98	97	35	96	95	95
PSQI	r	0,34	0,51	0,46	0,26	1,000	0,61	**0,76**	0,38	0,37	0,37
	p	0,001	<0,001	<0,001	0,010	.	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001
	n	97	96	95	98	98	96	**34**	95	94	94
PHQ-9	r	0,63	**0,76**	0,69	0,55	0,61	1,000	**0,76**	0,36	0,45	0,45
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	.	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001
	n	97	**97**	96	97	96	98	**34**	96	95	95
GAD-7	r	0,61	0,67	0,70	0,287	**0,76**	**0,76**	1,000	0,40	0,57	0,57
	p	<0,001	<0,001	<0,001	0,095	**<0,001**	**<0,001**	.	0,021	<0,001	<0,001
	n	34	34	32	35	**34**	**34**	35	33	33	33
Sch_{mom}	r	0,42	0,44	0,34	0,36	0,38	0,36	0,40	1,00	**0,78**	**0,78**
	p	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,021	.	**<0,001**	**<0,001**
	n	96	96	95	96	95	96	33	97	**96**	**96**
$Sch_{übl}$	r	0,44	0,46	0,44	0,40	0,35	0,42	0,47	0,87	**0,94**	**0,94**
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	0,005	<0,001	**<0,001**	**<0,001**
	n	96	96	95	96	95	96	33	97	**96**	**96**
Sch_{max}	r	0,43	0,46	0,47	0,39	0,37	0,45	0,57	0,78	**0,94**	1,00
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	**<0,001**	.
	n	95	95	94	95	94	95	33	96	**96**	96

Tabelle 13

Korrelationen der Subskalen des Brief Fatigue Inventory (BFI) mit den psychometrischen Fragebogenparametern | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt | PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7; ESS = Epworth Sleepiness Scale; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; Sch_{mom} = momentaner Schmerz; $Sch_{übl}$ = üblicher Schmerz; Sch_{max} = maximaler Schmerz

		PHQ-9	GAD-7	ESS	PSQI	Sch_{mom}	$Sch_{übl}$	Sch_{max}
BFI								
jetzige Ermüdung	**r**	**0,77**	0,62	0,53	0,57	0,43	0,46	0,50
	p	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	**98**	34	98	97	97	97	96
übliche Ermüdung in den letzten 24h	**r**	**0,68**	0,57	0,64	0,48	0,47	0,47	0,49
	p	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	**97**	34	97	96	96	96	95
stärkste Ermüdung in den letzten 24h	**r**	0,59	0,30	**0,62**	0,37	0,29	0,33	0,35
	p	<0,001	0,085	**<0,001**	<0,001	0,003	0,001	0,001
	n	96	33	**96**	95	95	95	94
Beeinträchtigung:								
Allgemeine Aktivität	**r**	**0,73**	0,60	0,51	0,49	0,42	0,44	0,46
	p	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	**96**	34	96	95	95	95	94
Stimmung	**r**	0,72	**0,75**	0,43	0,53	0,35	0,30	0,34
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	0,001	0,003	0,001
	n	97	**34**	97	96	96	96	95
Gehvermögen	**r**	**0,50**	**0,50**	0,39	0,37	0,39	0,31	0,32
	p	**<0,001**	**0,002**	<0,001	0,003	<0,001	0,002	0,002
	n	**97**	**34**	97	96	96	96	95
Normale Arbeit	**r**	**0,63**	0,51	0,49	0,38	0,44	0,43	0,44
	p	**<0,001**	0,002	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	**96**	34	96	95	95	95	94
Beziehung zu anderen Menschen	**r**	**0,68**	0,51	0,51	0,31	0,29	0,30	0,37
	p	**<0,001**	0,002	<0,001	0,005	0,005	0,003	<0,001
	n	**97**	34	97	96	96	96	95
Lebensfreude	**r**	**0,76**	0,61	0,57	0,41	0,34	0,34	0,37
	p	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	0,001	<0,001
	n	**97**	34	97	96	96	96	95

Tabelle 14
Korrelationen der Skalen des Multidimensional Fatigue Inventory (MFI-20) mit den psychometrischen Fragebogenparametern | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt | PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7; ESS = Epworth Sleepiness Scale; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; Sch_{mom} = momentaner Schmerz; $Sch_{übl}$ = üblicher Schmerz; Sch_{max} = maximaler Schmerz

MFI-20		PHQ-9	GAD-7	ESS	PSQI	Sch_{mom}	$Sch_{übl}$	Sch_{max}
general fatigue	**r**	**0,69**	**0,70**	0,49	0,46	0,34	0,47	0,47
	p	**<0,001**	**0,001**	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
	n	**96**	**32**	96	95	95	94	94
physical fatigue	**r**	**0,58**	0,54	0,42	0,35	0,30	0,35	0,34
	p	**<0,001**	0,002	<0,001	0,001	0,003	0,001	0,001
	n	**96**	32	96	95	95	95	94
reduced activity	**r**	**0,56**	0,48	0,23	0,35	0,17	0,23	0,29
	p	**<0,001**	0,006	0,023	0,00	0,097	0,029	0,005
	n	**94**	32	95	95	93	93	92
reduced motivation	**r**	**0,55**	0,50	0,38	0,35	0,22	0,25	0,29
	p	**<0,001**	0,004	<0,001	0,002	0,031	0,013	0,004
	n	**96**	32	96	95	95	95	94
mental fatigue	**r**	0,70	**0,75**	0,36	0,39	0,31	0,33	0,36
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	0,002	0,001	<0,001
	n	96	**32**	96	95	95	95	94

Tabelle 15
Übersicht der p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M) und Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) | ESS = Epworth Sleepiness Scale; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7

	FSS	BFI_M	$MFI\text{-}20_{gen}$
ESS > 10 vs. ESS ≤ 10	<0,001	<0,001	<0,001
PSQI > 5 vs. PSQI ≤ 5	0,001	<0,001	<0,001
PHQ-9 ≥ 10 vs. PHQ-9 < 10	<0,001	<0,001	<0,001
GAD-7 ≥ 10 vs. GAD-7 < 10	0,005	<0,001	0,004

Tabelle 16

Korrelationen der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit den Fragbogenparametern | ESS = Epworth Sleepiness Scale; PSQI = Pittsburgh Sleep Quality Index; Sch_{mom} = momentaner Schmerz; $Sch_{übl}$ = üblicher Schmerz; Sch_{max} = maximaler Schmerz; MFI-20_{gen}= Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue; MFI-20_{phys}= Multidimensional Fatigue Inventory, physical fatigue; MFI-20_{act}= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced activity; MFI-20_{mot}= Multidimensional Fatigue Inventory, reduced motivation; MFI-20_{ment}= Multidimensional Fatigue Inventory, mental fatigue; FSS=Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; GAD-7 = Generalized Anxiety Disorder 7

		ESS	PSQI	Sch_{mom}	$Sch_{übl}$	Sch_{max}	FSS	BFI_M	MFI_{gen}	MFI_{phys}	MFI_{act}	MFI_{mot}	MFI_{ment}	PHQ-9	GAD-7
Anti-β_2	r	0,0759	0,0318	0,0377	0,0936	0,1003	0,0379	0,0622	0,0523	0,0363	0,0183	0,0078	0,0598	0,0830	0,0787
	p	0,4530	0,7557	0,7141	0,3618	0,3308	0,7070	0,5429	0,6113	0,7241	0,8607	0,9397	0,5608	0,4163	0,6533
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	97	98	35
Anti-M1	r	0,0360	0,0643	0,0074	0,0590	0,0649	0,1041	0,0702	0,0864	0,0320	0,1388	0,0655	0,0298	0,1300	0,0014
	p	0,7224	0,5293	0,9428	0,5661	0,5299	0,3004	0,4919	0,3999	0,7558	0,1798	0,5238	0,7722	0,2019	0,9936
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	9	98	35
Anti-M2	r	0,0055	0,0242	0,0210	0,1173	0,1051	0,0236	0,034	0,0436	0,0075	0,01776	0,0627	0,0512	0,0855	0,0806
	p	0,9569	0,8129	0,8381	0,2526	0,3080	0,8150	0,7385	0,6713	0,9417	0,8644	0,5416	0,6187	0,4027	0,6452
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	97	98	35
Anti-M3	r	0,0325	0,0092	0,0645	0,1040	0,1014	0,1566	0,0905	0,0354	0,1893	0,1430	0,0448	0,1629	0,0386	0,0817
	p	0,7479	0,9281	0,5297	0,3108	0,3255	0,1179	0,3754	0,7306	0,0633	0,1669	0,6634	0,1108	0,7059	0,6406
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	97	98	35
Anti-M4	r	0,0446	0,0262	0,0346	0,0715	0,0707	0,1537	0,0811	0,0230	0,1619	0,1158	0,0397	0,1763	0,0180	0,1458
	p	0,6596	0,7979	0,7363	0,4864	0,4936	0,1249	0,4271	0,8230	0,1131	0,2636	0,6993	0,0842	0,8606	0,4033
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	97	98	35
Anti-M5	r	0,0349	0,0277	0,0529	0,0621	0,0488	0,0798	0,0330	0,0312	0,1393	0,1157	0,0550	0,0956	0,0285	0,0859
	p	0,7302	0,7864	0,6062	0,5459	0,6372	0,4274	0,7472	0,7618	0,1736	0,2641	0,5928	0,3518	0,7807	0,6237
	n	100	98	97	97	96	101	98	97	97	95	97	97	98	35

Tabelle 17
Korrelation der Thrombozytenzahl (Thro) [x10_9/l] mit Fatigue, Depressivität und Tagesschläfrigkeit
Die stärkste Korrelation ist fett gedruckt | FSS=Fatigue Severity Scale; BFI_M= Brief Fatigue Inventory, Mittelwert**;** MFI-20_{gen}= Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue; ESS = Epworth Sleepiness Scale; PHQ-9 = Patient Health Questionnaire 9; MFI-20_{gen}= Multidimensional Fatigue Inventory, general fatigue

		FSS	BFI_M	MFI-20_{gen}	PHQ-9	ESS
	r	-0,34	-0,26	-0,20	-0,20	**-0,35**
Thro	**p**	<0,001	0,011	0,057	0,052	**0,001**
	n	94	92	91	92	**94**

Tabelle 18
Korrelation der Leukozytenzahl (Leu) und Neutrophilenzahl (Neu) [x10_9/l] mit der physischen Fatigue (MFI-20_{phys}), reduzierten Aktivität (MFI-20_{act}) und reduzierten Motivation (MFI-20_{mot}) | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt

		MFI-20_{phys}	MFI-20_{act}	MFI-20_{mot}
	r	**-0,26**	-0,19	-0,24
Leu	**p**	**0,012**	0,070	0,024
	n	**91**	89	91
	r	**-0,29**	-0,21	-0,24
Neu	**p**	**0,005**	0,046	0,026
	n	**90**	88	90

Tabelle 19
Korrelation der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) mit Hämoglobin (HB) [g/dl], Leukozytenzahl (Leu), Neutrophilenzahl (Neu) und Lymphozytenzahl (Lym) [x10^9/l]

		HB	Leu	Neu	Lym
	r	-0,04	-0,07	-0,08	-0,05
FSS	**p**	0,734	0,489	0,462	0,671
	n	94	94	93	93

Tabelle 20
Korrelation der Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS) mit der Hautbeteiligung (modified Rodnan Skin Score, mRSS), dem Body-Mass-Index (BMI) [kg/m^2], der Krankheitsdauer (KD), dem C-reaktiven Protein (CRP) [mg/l], der Creatinkinase (CK) [U/l], der funktionellen Vitalkapazität (FVC) [%], dem Kohlenmonoxid-Transferfaktor (TLCO) [%], dem Troponin T (Trop T) [ng/l], dem N-terminalen B-Typ natriuretischen Peptid (NT-proBNP) [ng/l], der Ejektionsfraktion (EF) [%], dem systolischen pulmonalarteriellen Druck (sPAP) [mmHg], dem Kreatinin (Krea) [µmol/l] und der glomerulären Filtrationsrate (GFR)

		mRSS	BMI	KD	CRP	CK	FVC	TLCO	Trop-T	ntproBNP	EF	sPAP	Krea	GFR
FSS	r	0,06	0,15	-0,09	0,12	0,05	0,04	0,06	0,22	0,04	0,06	0,11	0,001	0,12
	p	0,549	0,167	0,365	0,243	0,680	0,743	0,647	0,258	0,751	0,677	0,611	0,989	0,232
	n	89	87	95	94	81	65	67	28	79	51	23	96	96

Tabelle 21
Lageparameter der Autoantikörpertiter [Units/ml] | SD = Standardabweichung; IQR = Interquartilsabstand

	Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
Spannweite	0,5-69,9	1,5-101,6	1,2-75,3	1,6-50,5	1,8-41,8	1-64,1
Mittelwert	11,3	12,2	9,2	6,4	7,7	7,3
SD	12,1	17,1	13,4	6,1	7,0	8,2
Median	7,5	6,7	4,8	4,8	5,6	5,4
IQR	9,7	6,7	4,5	4,5	6,2	7

Tabelle 22
Übersicht der p-Werte der Mann-Whitney-U-Tests der Autoantikörpertiter [Units/ml] | m = männlich; w = weiblich; GI = gastrointestinal; dcSSc = diffus kutante systemische Sklerose; lcSSc = limitiert kutane systemische Sklerose

	Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
Geschlecht m/w	0,055	0,049	0,038	0,096	0,095	0,159
Organbeteiligung +/-	<0,001	<0,001	<0,001	0,023	0,017	0,011
GI-Beteiligung +/-	<0,001	0,010	0,003	0,025	0,019	0,050
Kardiale Beteiligung +/-	0,169	0,04	0,087	0,187	0,18	0,049
Pulmonale Beteiligung +/-	0,179	0,097	0,053	0,414	0,435	0,285
Muskuloskelettale Beteiligung +/-	0,765	0,279	0,387	0,551	0,485	0,744
Immunsuppressive Therapie +/-	0,023	0,015	0,003	0,333	0,365	0,189
dcSSc/lcSSc	0,002	0,001	0,005	0,437	0,181	0,047
Beta-Blocker Therapie	0,264	-	-	-	-	-

Tabelle 23
Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit dem Alter

		Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
Alter	r	-0,07	-0,01	-0,12	-0,15	-0,17	-0,14
	p	0,468	0,910	0,234	0,137	0,089	0,151
	n	102	102	102	102	102	102

Tabelle 24
Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] untereinander | Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt

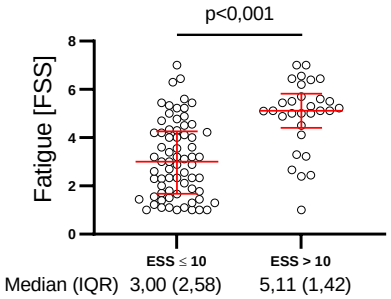
		Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
Anti-β2	**r**	1,00	**0,76**	0,73	0,61	0,67	0,64
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	102	**102**	102	102	102	102
Anti-M1	**r**	0,76	1,00	**0,84**	0,54	0,53	0,65
	p	<0,001	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001
	n	102	102	**102**	102	102	102
Anti-M2	**r**	0,73	**0,84**	1,00	0,64	0,61	0,75
	p	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	102	**102**	102	102	102	102
Anti-M3	**r**	0,61	0,54	0,64	1,00	**0,95**	0,92
	p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	**<0,001**	<0,001
	n	102	102	102	102	**102**	102
Anti-M4	**r**	0,67	0,53	0,61	**0,95**	1,00	0,88
	p	<0,001	<0,001	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001
	n	102	102	102	**102**	102	102
Anti-M5	**r**	0,64	0,65	0,75	**0,92**	0,88	1,00
	p	<0,001	<0,001	<0,001	**<0,001**	<0,001	<0,001
	n	102	102	102	**102**	102	102

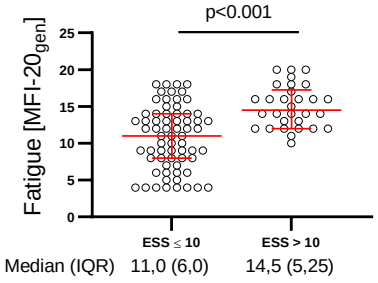
Tabelle 25
Korrelation der Autoantikörpertiter [Units/ml] mit der Lymphozytenzahl (Lym) [x10^9/l] und der Creatinkinase (CK) [U/l]
Die jeweils stärksten Korrelationen sind fett gedruckt

		Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
	r	**-0,36**	-0,29	-0,32	-0,14	-0,18	-0,18
Lym	**p**	**<0,001**	0,004	0,002	0,175	0,076	0,086
	n	**94**	94	94	94	94	94
	r	0,26	**0,33**	0,30	0,15	0,13	0,19
logCK	**p**	0,017	**0,003**	0,006	0,189	0,243	0,084
	n	82	**82**	82	82	82	82

Tabelle 26
Korrelation von Anti-β_2 [Units/ml] mit der Hautbeteiligung | mRSS = modified Rodnan Skin Score
Die stärkste Korrelation ist fett gedruckt

		Anti-β2	Anti-M1	Anti-M2	Anti-M3	Anti-M4	Anti-M5
	r	**0,25**	0,16	0,20	0,04	0,10	0,09
mRSS	**p**	**0,018**	0,139	0,061	0,733	0,371	0,386
	n	**90**	90	90	90	90	90





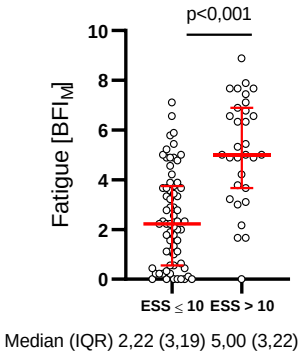
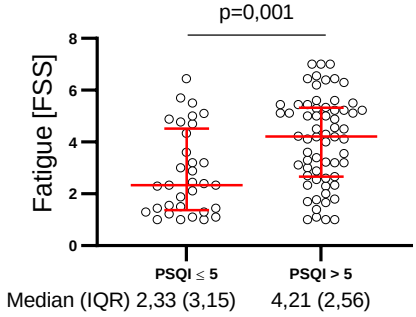
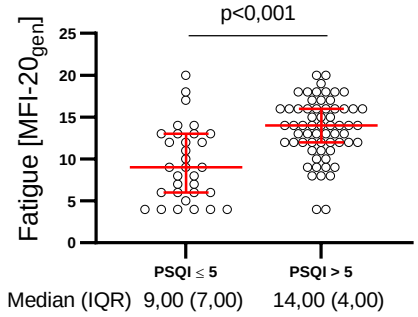


Abbildung 34
Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M), und Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) bei Pat. mit erhöhter (ESS > 10) und nicht erhöhter Tagesschläfrigkeit (ESS ≤ 10) | Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt.





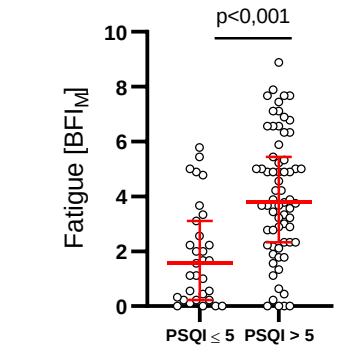


Abbildung 35
Fatigue gemessen mittels Fatigue Severity Scale (FSS), Brief Fatigue Inventory, Mittelwert (BFI_M), und Multidimensional Fatigue Inventory 20, general fatigue ($MFI\text{-}20_{gen}$) bei Pat. mit (PSQI > 5) und ohne Schlafstörungen (PSQI ≤ 5)
Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt.

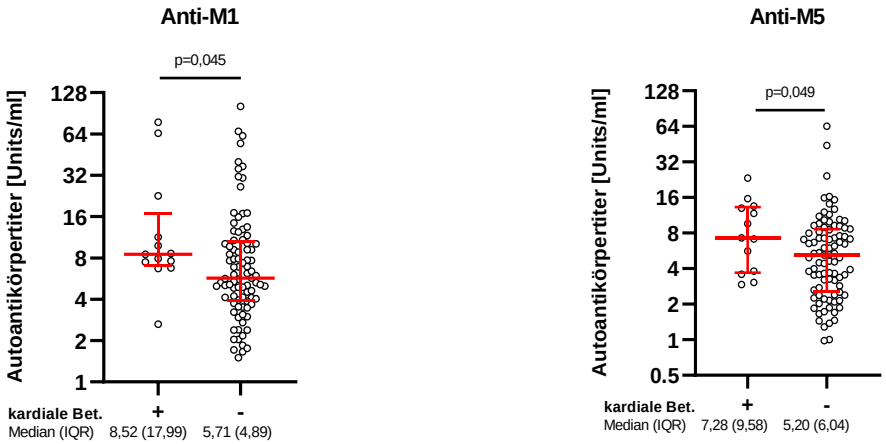


Abbildung 36
Autoantikörpertiter [Units/ml] bei SSc Pat. mit kardialer Beteiligung (+) und ohne (-) kardiale Beteiligung. Median und Interquartilsabstand (IQR) sind in Rot dargestellt.

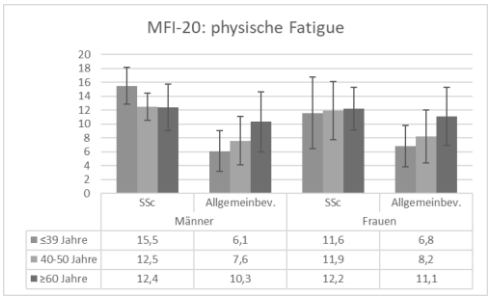


Abbildung 37
Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der physischen Fatigue des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003)

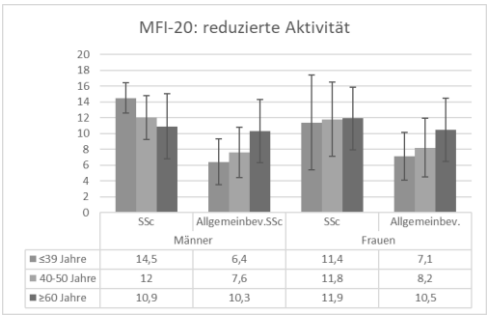


Abbildung 38
Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der reduzierten Aktivität des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003)

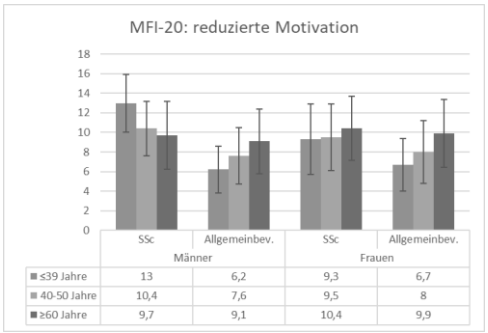


Abbildung 39
Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der reduzierten Motivation des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003)

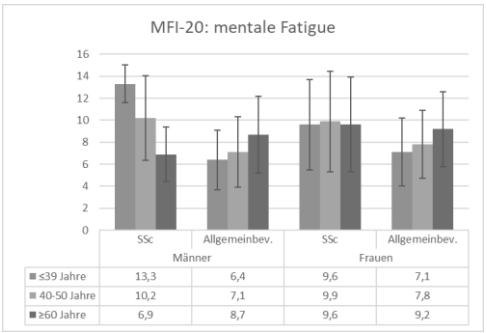


Abbildung 40
Nach Alter und Geschlecht getrennte Mittelwerte und Standardabweichungen der Skala der mentalen Fatigue des MFI-20 bei SSc und in der Allgemeinbevölkerung (Schwarz et al., 2003)

7.2 ELISA Datenblätter

7.2.1 Ant-β_2-ELISA

EIA for Quantitative Determination of anti-β2-adrenergic-Receptor-Antibodies

Introduction

The β-2 adrenergic receptor is a G protein-coupled receptor. β receptors have the subtypes β_1, β_2 and β_3. Autoantibodies against β2 adr-r are significantly elevated in patients suffering from chronic fatigue syndrome (CFS) / myalgic encephalomyelitis (ME). β-2 adrenergic receptor (b2 adr-r) autoantibodies are present in a subset of 20-30% of chronic fatigue syndrome patients.

The CellTrend anti-β2-adrenergic-receptor-antibody-EIA is designed for the determination of antibodies (IgG) against the β2-adrenergic-receptor in serum and plasma.

Principle of the assay

The CellTrend anti-β2-adrenergic-receptor-antibody-EIA is an antibody screening test. The β2-adrenergic-receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-β2-adrenergic-receptor-antibodies of the samples are immobilised on the plate. The auto-antibodies are detected with a POD labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-β2-adrenergic-receptor-antibodies

Performance Characteristics

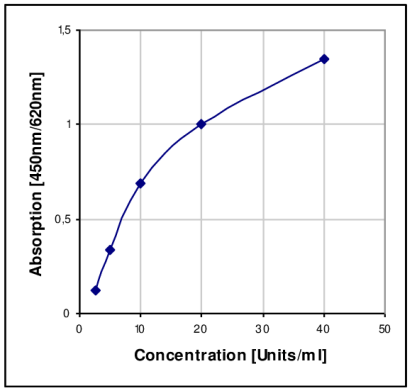
Standard curve:
5 standards between 2.5 U/ml and 40 U/ml

cut off (Löbel et al, Brain Behav Immun 2015):
positive (95% percentile): 14.0 Units/ml
at risk (90% percentile): 8.0 – 14.0 Units/ml

Sample materials:
Serum

Intraassay-Precision:
(n=10)
Sample 1 (38 U/ml): 7.3%
Interassay-Precision:
(n=20)
Sample 1 (38 U/ml): 10.8%

Typical Standard Curve



Assay Procedure

Incubation of samples/ standards/ controls	100 µl	2 hrs, 4°C
Wash		
Incubation of detection antibody	100 µl	1 hr, room temperature
Wash		
Substrate incubation	100 µl/well	20 min, room temperature
Add Stopp solution	100 µl/well	
Read at 450nm		

Order informations

Product	Catalog number	Price (€)
EIA for Quantitative Determination of anti-β2 AR AA, 1x96 determ.	12700	-

CellTrend GmbH, Im Biotechnologiepark TGZ II, D-14943 Luckenwalde, email: info@celltrend.de
Phone: +49 (0)3371 / 681 290, FAX: +49 (0)3371 / 681 312 Version: 11/2015

Introduction

Muscarinic cholinergic receptors (mAChRs) are acetylcholine receptors that form G protein-receptor complexes in the cell membranes of certain neurons and other cells. The CellTrend anti-muscarinic cholinergic receptor 1 (M1)-Antibody EIA is designed for the determination of antibodies against the muscarinic cholinergic receptor 1 (M1) in serum.

Principle of the Assay

The CellTrend muscarinic cholinergic receptor 1 (M1)-EIA is an antibody screening test. M1 receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-muscarinic cholinergic receptor 1-antibodies of the samples are immobilized on the plate. The autoantibodies are detected with a HRP labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-muscarinic cholinergic receptor 1 antibodies.

Precautions

Store the kit at 2-8 °C (shipping to end user at room temperature).

For Research Use Only! Not for diagnostic use.

For in vitro use only.

Do not use the reagents beyond the expiration date marked on box label.

Please read the instructions carefully before using the kit.

The assay procedure should be carried out only by qualified and well trained employees.

Lipaemic, icteric, haemolysed or microbially contaminated specimen may cause interference.

Do not mix reagents from different lots.

Some components of the kit contain human blood derivatives. No known test method can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious. It is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices.

Some components of this kit contain Thimerosal, a mercury containing compound. Follow routine precautions for handling hazardous chemicals. Avoid contact with skin and mucous membranes when handling reagents, which contain preservatives (see materials provided). Wash thoroughly with water in case of contact and possibly look up a doctor.

The stop solution contains 0.5 M sulphuric acid. Wash thoroughly with water in case of contact with skin. In case of contact with eyes rinse with much water and look up a doctor.

Do not allow the wells to become dry once the assay has begun.

Other supplies required

Deionized or distilled water
Graduated cylinder
Micropipettes, multipipette
Microplate shaker
Microplate reader
Refrigerator (2-8 °C)

Preparation of reagents and samples

- Bring all reagents to room temperature before use. If crystals have formed, mix gently until the crystals have completely dissolved.

- The microplate strips MTP are ready to use. Remove excess strips (breakable) from the frame, reseal in the bag with the desiccant and store at 2-8 °C.

- Dilute the wash buffer BUF WASH 10x with deionized or distilled water **1:10** (e. g. 50 ml + 450 ml water). The diluted solution is stable for 30 days at 2-8 °C.

- Dilute the HRP conjugate CONJ ENZ 100x with diluent DIL Conj **1:100** (e. g. 50 µl + 4950 µl diluent DIL Conj). The required amount of conjugate solution should be prepared freshly.

- Dilute the human serum samples with diluent DIL SPE **1:100** (e. g. 5 µl + 495 µl diluent). Store undiluted samples at -20 °C.

- The control CONTROL, the diluent sample DIL SPE and the diluent conjugate DIL Conj are ready to use.

- The Standards CAL 1-6 are ready to use.

Assay procedure

It is recommended that all samples and standards be assayed in duplicates.

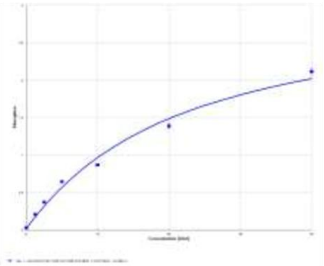
1. Prepare all reagents and samples as directed in the previous section.
2. Pipette 100 µl of diluted samples, standards, control or diluent DIL SPE (as blank) into the wells.
3. Seal wells with adhesive strip and incubate for 2 hours at 4°C temperature.
4. Aspirate fluid from wells and wash three times with 300 µl wash buffer. After the last wash, invert the plate and tap on a clean paper towel.
5. Dispense 100 µl of diluted HRP conjugate into each well
6. Seal wells with adhesive strip and incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature.
7. Repeat the wash as in step 4.
8. Dispense 100 µl of TMB substrate SUBS TMB solution into each well.
9. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark.
10. Add 100 µl of stop solution SOLN STOP to each well.
11. Determine the absorbance within 30 minutes at 450 nm. A reference wavelength of 620 nm/690 nm is recommended.

Calculation of results
Create a standard curve using computer software capable of generating a curve fit (four parameter fit; x-axis: linear, anti-M1R-Ab standard points (1.25 U/ml, 2.5 U/ml, 5 U/ml, 10 U/ml, 20 U/ml, 40 U/ml); y-axis: linear, absorbance). The sample concentrations can be calculated from the standard curve.

A run is considered valid if the control is in the expected range (see label).

We recommend that each laboratory establish its own range for the population tested.

Samples over the standard curve can be assayed again using a higher dilution factor (e.g. 1:500). In this case the concentration read from the standard curve must be multiplied by the additional dilution factor (e.g. 5 for 1:500 dilution).



This standard curve is provided for demonstration only. A standard curve must be run with each assay.

Precision
- Intra-assay precision (CV)
(n=10)
Sample 1 (17.2 Units): 4.1%

- Inter-assay precision (CV)
(n=10)
Sample 1 (16.5 Units): 8.6%

Version 01: 05/2017 #15200

INSTRUCTIONS FOR USE

EIA for Quantitative Determination of anti- Muscarinic Cholinergic Receptor 1 (M1)-Antibodies

REF 15100

CellTrend

Σ 96 2°C 8°C

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

CellTrend GmbH
Im Biotechnologiepark
D-14943 Luckenwalde
Germany
Phone: +49 3371 / 681 290
FAX: +49 3371 / 681 312
Email: info@CellTrend.de

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M1R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [1.25 - 2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL			Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M1R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [1.25 - 2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL			Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Version 01: 05/2017 #15100

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
Σ	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
Σ	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

Introduction

Muscarinic cholinergic receptors (mAChRs) are acetylcholine receptors that form G protein-receptor complexes in the cell membranes of certain neurons and other cells. The CellTrend anti-muscarinic cholinergic receptor 2 (M2)-Antibody EIA is designed for the determination of antibodies against the muscarinic cholinergic receptor 2 (M2) in serum.

Principle of the Assay

The CellTrend muscarinic cholinergic receptor 2 (M2)-EIA is an antibody screening test. M2 receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-muscarinic cholinergic receptor 2-antibodies of the samples are immobilized on the plate. The autoantibodies are detected with a HRP labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-muscarinic cholinergic receptor 2 antibodies.

Precautions

Store the kit at 2-8 °C (shipping to end user at room temperature).

For Research Use Only! Not for diagnostic use.

For in vitro use only.

Do not use the reagents beyond the expiration date marked on box label.

Please read the instructions carefully before using the kit.

The assay procedure should be carried out only by qualified and well trained employees.

Lipaemic, icteric, haemolysed or microbially contaminated specimen may cause interference.

Do not mix reagents from different lots.

Some components of the kit contain human blood derivatives. No known test method can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious. It is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices.

Some components of this kit contain Thimerosal, a mercury containing compound. Follow routine precautions for handling hazardous chemicals. Avoid contact with skin and mucous membranes when handling reagents, which contain preservatives (see materials provided). Wash thoroughly with water in case of contact and possibly look up a doctor.

The stop solution contains 0.5 M sulphuric acid. Wash thoroughly with water in case of contact with skin. In case of contact with eyes rinse with much water and look up a doctor.

Do not allow the wells to become dry once the assay has begun.

Other supplies required

Deionized or distilled water
Graduated cylinder
Micropipettes, multipipette
Microplate shaker
Microplate reader
Refrigerator (2-8 °C)

Preparation of reagents and samples

- Bring all reagents to room temperature before use. If crystals have formed, mix gently until the crystals have completely dissolved.

- The microplate strips MTP are ready to use. Remove excess strips (breakable) from the frame, reseal in the bag with the desiccant and store at 2-8 °C.

- Dilute the wash buffer BUF WASH 10x with deionized or distilled water **1:10** (e. g. 50 ml + 450 ml water). The diluted solution is stable for 30 days at 2-8 °C.

- Dilute the HRP conjugate CONJ ENZ 100x with diluent DIL Conj **1:100** (e. g. 50 µl + 4950 µl diluent DIL Conj). The required amount of conjugate solution should be prepared freshly.

- Dilute the human serum samples with diluent DIL SPE **1:100** (e. g. 5 µl + 495 µl diluent). Store undiluted samples at -20 °C.

- The control CONTROL, the diluent sample DIL SPE and the diluent conjugate DIL Conj are ready to use.

- The Standards CAL 1-6 are ready to use.

Assay procedure

It is recommended that all samples and standards be assayed in duplicates.

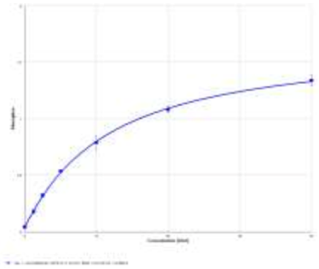
1. Prepare all reagents and samples as directed in the previous section.
2. Pipette 100 µl of diluted samples, standards, control or diluent DIL SPE (as blank) into the wells.
3. Seal wells with adhesive strip and incubate for 2 hours at 4°C temperature.
4. Aspirate fluid from wells and wash three times with 300 µl wash buffer. After the last wash, invert the plate and tap on a clean paper towel.
5. Dispense 100 µl of diluted HRP conjugate into each well
6. Seal wells with adhesive strip and incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature.
7. Repeat the wash as in step 4.
8. Dispense 100 µl of TMB substrate SUBS TMB solution into each well.
9. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark.
10. Add 100 µl of stop solution SOLN STOP to each well.
11. Determine the absorbance within 30 minutes at 450 nm. A reference wavelength of 620 nm/690 nm is recommended.

Calculation of results
Create a standard curve using computer software capable of generating a curve fit (four parameter fit; x-axis: linear, anti-M1R-Ab standard points (1.25 U/ml, 2.5 U/ml, 5 U/ml, 10 U/ml, 20 U/ml, 40 U/ml); y-axis: linear, absorbance). The sample concentrations can be calculated from the standard curve.

A run is considered valid if the control is in the expected range (see label).

We recommend that each laboratory establish its own range for the population tested.

Samples over the standard curve can be assyed again using a higher dilution factor (e.g. 1:500). In this case the concentration read from the standard curve must be multiplied by the additional dilution factor (e.g. 5 for 1:500 dilution).



This standard curve is provided for demonstration only. A standard curve must be run with each assay.

Precision
- Intra-assay precision (CV)
(n=10)
Sample 1 (19.5 Units): 9.9%

- Inter-assay precision (CV)
(n=10)
Sample 1 (17.8 Units): 15.2%

Version 01: 05/2017 #15200

INSTRUCTIONS FOR USE

EIA for Quantitative Determination of anti- Muscarinic Cholinergic Receptor 2 (M2)-Antibodies

REF 15200

CellTrend

Σ 96 2°C 8°C

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

CellTrend GmbH
Im Biotechnologiepark
D-14943 Luckenwalde
Germany
Phone: +49 3371 / 681 290
FAX: +49 3371 / 681 312
Email: info@CellTrend.de

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M2R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [1.25 - 2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL			Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M2R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [1.25 - 2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL			Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Version 01: 05/2017 #15200

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
Σ	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
Σ	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

7.2.4 Anti-M3-ELISA

EIA for Quantitative Determination of anti-Muscarinic Cholinergic Receptor 3 (M3)-Antibodies

Introduction

Muscarinic cholinergic receptors, or mAChRs, are acetylcholine receptors that form G protein-receptor complexes in the cell membranes of certain neurons and other cells. Autoantibodies against M3 AChR are significantly elevated in patients suffering from chronic fatigue syndrome (CFS) / myalgic encephalomyelitis (ME). Muscarinic acetylcholine receptor 3 (M3) autoantibodies are present in a subset of 20-30% of chronic fatigue syndrome patients.
The CellTrend anti-muscarinic cholinergic receptor 3 (M3)-antibody EIA is designed for the determination of antibodies against the muscarinic cholinergic receptor 3 (M3) in serum.

Principle of the assay

The CellTrend muscarinic cholinergic receptor 3 (M3)-EIA is an antibody screening test. M3 receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-muscarinic cholinergic receptor 3-antibodies of the samples are immobilised on the plate. The autoantibodies are detected with a POD labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-muscarinic cholinergic receptor 3-antibody.

Performance Characteristics

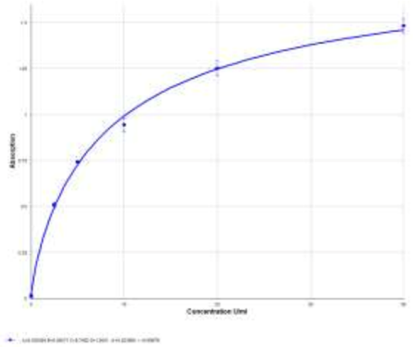
Standard curve:
5 standards between 2.5 U/ml and 40 U/ml

cut off (Löbel et al, Brain Behav Immun 2015):
positive (95% percentile): 10.0 Units/ml
at risk (90% percentile): 6.0 – 10.0 Units/ml

Sample materials:
Serum

Intraassay-Precision:
(n=10)
Sample 1 (8.2 U/ml): 5.9%
Interassay-Precision:
(n=10)
Sample 1 (12,9 U/ml): 10,1%

Typical Standard Curve



Assay Procedure

Incubation of samples/ standards/ controls	100 µl	2 hrs, 4°C
Wash		
Incubation of detection antibody	100 µl	1 hr, room temperature
Wash		
Substrate incubation	100 µl/well	30 min, room temperature
Add Stopp solution	100 µl/well	
Read at 450nm		

Order informations

Product	Catalog number	Price (€)
EIA for Quantitative Determination of anti-M3-AB, 1x96 determin.	15300	-

CellTrend GmbH, Im Biotechnologiepark TGZ II, D-14943 Luckenwalde, email: info@celltrend.de
Phone: +49 (0)3371 / 681 290, FAX: +49 (0)3371 / 681 312 Version: 11/2015

7.2.5 Anti-M4-ELISA

EIA for Quantitative Determination of anti-Muscarinic Cholinergic Receptor 4 (M4)-Antibodies

Introduction

Muscarinic cholinergic receptors, or mAChRs, are acetylcholine receptors that form G protein-receptor complexes in the cell membranes of certain neurons and other cells. Autoantibodies against M4 AChR are significantly elevated in patients suffering from chronic fatigue syndrome (CFS) / myalgic encephalomyelitis (ME). Muscarinic cholinergic receptor 4 (M4) autoantibodies are present in a subset of 20-30% of chronic fatigue syndrome patients..
The CellTrend anti-muscarinic cholinergic receptor 4 (M4)-Antibody EIA is designed for the determination of antibodies against the muscarinic cholinergic receptor 4 (M4) in serum.

Principle of the assay

The CellTrend muscarinic cholinergic receptor 4 (M4)-EIA is an antibody screening test. M4 receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-muscarinic cholinergic receptor 4-antibodies of the samples are immobilised on the plate. The autoantibodies are detected with a POD labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-muscarinic cholinergic receptor 4-antibody.

Performance Characteristics

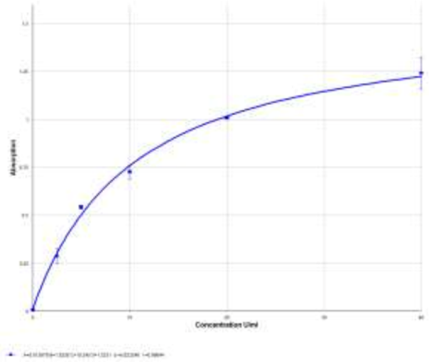
Standard curve:
5 standards between 2.5 U/ml and 40 U/ml

cut off (Löbel et al, Brain Behav Immun 2015):
positive (95% percentile): 7.0 Units/ml
at risk (90% percentile): 5.0 – 7.0 Units/ml

Sample materials:
Serum

Intraassay-Precision:
(n=10)
Sample 1 (6.6 U/ml): 7.3%
Interassay-Precision:
(n=10)
Sample 1 (8,8 U/ml): 12,5%

Typical Standard Curve



Assay Procedure

Incubation of samples/ standards/ controls	100 µl	2 hrs, 4°C
Wash		
Incubation of detection antibody	100 µl	1 hr, room temperature
Wash		
Substrate incubation	100 µl/well	30 min, room temperature
Add Stopp solution	100 µl/well	
Read at 450nm		

Order informations

Product	Catalog number	Price (€)
EIA for Quantitative Determination of anti-M4-AB, 1x96 determ.	15400	-

CellTrend GmbH, Im Biotechnologiepark TGZ II, D-14943 Luckenwalde, email: info@celltrend.de
Phone: +49 (0)3371 / 681 290, FAX: +49 (0)3371 / 681 312 Version: 11/2015

Introduction

Muscarinic cholinergic receptors (mAChRs) are acetylcholine receptors that form G protein-receptor complexes in the cell membranes of certain neurons and other cells. The CellTrend anti-muscarinic cholinergic receptor 5 (M5)-Antibody EIA is designed for the determination of antibodies against the muscarinic cholinergic receptor 5 (M5) in serum.

Principle of the Assay

The CellTrend muscarinic cholinergic receptor 5 (M5)-EIA is an antibody screening test. M4 receptor has been pre-coated onto a microtiter plate. During the first incubation the anti-muscarinic cholinergic receptor 5-antibodies of the samples are immobilized on the plate. The autoantibodies are detected with a HRP labeled anti-human IgG antibody. In the following enzymatic substrate reaction the intensity of the colour correlates with the concentration and/ or avidity of anti-muscarinic cholinergic receptor 5 antibodies.

Precautions

Store the kit at 2-8 °C (shipping to end user at room temperature).

For Research Use Only! Not for diagnostic use.

For in vitro use only.

Do not use the reagents beyond the expiration date marked on box label.

Please read the instructions carefully before using the kit.

The assay procedure should be carried out only by qualified and well trained employees.

Lipaemic, icteric, haemolysed or microbially contaminated specimen may cause interference.

Do not mix reagents from different lots.

Some components of the kit contain human blood derivatives. No known test method can offer complete assurance that products derived from human blood will not transmit infectious agents. Therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious. It is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices.

Some components of this kit contain Thimerosal, a mercury containing compound. Follow routine precautions for handling hazardous chemicals. Avoid contact with skin and mucous membranes when handling reagents, which contain preservatives (see materials provided). Wash thoroughly with water in case of contact and possibly look up a doctor.

The stop solution contains 0.5 M sulphuric acid. Wash thoroughly with water in case of contact with skin. In case of contact with eyes rinse with much water and look up a doctor.

Do not allow the wells to become dry once the assay has begun.

Other supplies required

Deionized or distilled water
Graduated cylinder
Micropipettes, multipipette
Microplate shaker
Microplate reader
Refrigerator (2-8 °C)

Preparation of reagents and samples

- Bring all reagents to room temperature before use. If crystals have formed, mix gently until the crystals have completely dissolved.

- The microplate strips MTP are ready to use. Remove excess strips (breakable) from the frame, reseal in the bag with the desiccant and store at 2-8 °C.

- Dilute the wash buffer BUF WASH 10x with deionized or distilled water **1:10** (e. g. 50 ml + 450 ml water). The diluted solution is stable for 30 days at 2-8 °C.

- Dilute the HRP conjugate CONJ ENZ 100x with diluent DIL Conj **1:100** (e. g. 50 µl + 4950 µl diluent DIL Conj). The required amount of conjugate solution should be prepared freshly.

- Dilute the human serum samples with diluent DIL SPE **1:100** (e. g. 5 µl + 495 µl diluent). Store undiluted samples at -20 °C.

- Standards CAL 1-5, positive control CONTROL +, negative control CONTROL -, the diluent sample DIL SPE and the diluent conjugate DIL Conj, are ready to use.

Assay procedure

It is recommended that all samples and standards be assayed in duplicates.

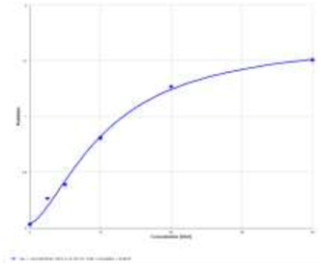
1. Prepare all reagents and samples as directed in the previous section.
2. Pipette 100 µl of diluted samples, standards, control or diluent DIL SPE (as blank) into the wells.
3. Seal wells with adhesive strip and incubate for 2 hours at 4°C temperature.
4. Aspirate fluid from wells and wash three times with 300 µl wash buffer. After the last wash, invert the plate and tap on a clean paper towel.
5. Dispense 100 µl of diluted HRP conjugate into each well
6. Seal wells with adhesive strip and incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature.
7. Repeat the wash as in step 4.
8. Dispense 100 µl of TMB substrate SUBS TMB solution into each well.
9. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark.
10. Add 100 µl of stop solution SOLN STOP to each well.
11. Determine the absorbance within 30 minutes at 450 nm. A reference wavelength of 620 nm/690 nm is recommended.

Calculation of results
Create a standard curve using computer software capable of generating a curve fit (four parameter fit; x-axis: linear, anti-M5R-Ab standard points (2.5 U/ml, 5 U/ml, 10 U/ml, 20 U/ml, 40 U/ml); y-axis: linear, absorbance). The sample concentrations can be calculated from the standard curve.

A run is considered valid if the control is in the expected range (see label).

We recommend that each laboratory establish its own range for the population tested.

Samples over the standard curve can be assayed again using a higher dilution factor (e.g. 1:500). In this case the concentration read from the standard curve must be multiplied by the additional dilution factor (e.g. 5 for 1:500 dilution).



This standard curve is provided for demonstration only. A standard curve must be run with each assay.

Precision
- Intra-assay precision (CV) (n=10)
Sample 1 (14.5 Units): 3.9%

- Inter-assay precision (CV) (n=10)
Sample 1 (13.8 Units): 3.6%

Version 02: 05/2017 #15500

INSTRUCTIONS FOR USE

EIA for Quantitative Determination of anti- Muscarinic Cholinergic Receptor 5 (M5)-Antibodies

REF 15500

CellTrend

96 2°C 8°C

For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

CellTrend GmbH
Im Biotechnologiepark
D-14943 Luckenwalde
Germany
Phone: +49 3371 / 681 290
FAX: +49 3371 / 681 312
Email: info@CellTrend.de

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M5R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL	+		Control, ready to use ●	1 ml
CONTRO	-		Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Materials provided:

MTP			Microplate strips, M5R coated	12 x 8
BUF	WASH	10x	Wash buffer, 10fold conc. ✦	50 ml
DIL	SPE		Diluent sample, ready to use ✦	50 ml
DIL	Conj		Diluent conjugate, ready to use ✦	14 ml
CAL	1-6		Standards, ready to use [2.5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ●	1 ml
CONTROL	+		Control, ready to use ●	1 ml
CONTRO	-		Control, ready to use ●	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, HRP conjugate, 100fold conc.●	0.2 ml
SUBS	TMB		TMB substrate, ready to use	12 ml
SOLN	STOP		Stop solution, ready to use (0.5 M sulphuric acid)	12 ml

✦: contains ProClin 300
●: contains Thimerosal

Assay procedure summary:

A. Preparation

1. Bring all reagents to room temperature
2. Dilute wash buffer 1:10
3. Dilute samples with diluent sample 1:100
4. Dilute freshly HRP conjugate 1:100 with diluent conjugate

B. Performance

1. Pipette 100 µl of samples, standards, controls into the wells
2. Incubate for 2 hours at 4°C temperature
3. Wash three times with 300 µl of wash buffer
4. Dispense 100 µl of HRP conjugate solution
5. Incubate for 1 hour (with shaking) at room temperature
6. Wash three times with 300 µl of wash buffer
7. Dispense 100 µl of TMB substrate solution
8. Incubate for 20 minutes at room temperature in the dark
9. Add 100 µl of stop solution
10. Measure absorption at 450 nm / 620 nm

Version 02: 05/2017 #15500

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

REF	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.–Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
LOT	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

7.3 Eidesstattliche Erklärung

Diese Dissertation wurde unter der Betreuung von Frau Prof. Dr. med. Tanja Lange in der Klinik für Rheumatologie und Klinische Immunologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein in Lübeck angefertigt.

Die zuständige ärztliche Leiterin Frau Prof. Dr. med. Gabriela Riemekasten ist damit einverstanden, dass die Abhandlung als Dissertation eingereicht wird.

Ich versichere, dass ich die Dissertation ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die in der Arbeit genannten personellen, technischen und sachlichen Hilfen oder Hilfsmittel benutzt habe.

Des Weiteren versichere ich, dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität vorgelegt wurde und nicht vorher oder gleichzeitig andernorts ein Zulassungsantrag gestellt wurde.

Ich erkläre, dass ich mich noch keinem anderen Promotionsverfahren unterzogen habe.

Halle, 16.03.2023 Sabine Sommerlatte

7.4 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

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

8 Danksagung

Mein Dank gilt insbesondere Prof. Tanja Lange für die gute Betreuung und die kritische Durchsicht der Dissertation sowie Prof. Gabriela Riemekasten, die mir die Bearbeitung dieses spannenden Themas an ihrer Klinik ermöglicht hat. Zudem danke ich insbesondere auch dem GRK 1727, welches mir durch ein Promotionsstipendium die Durchführung dieser Dissertation ermöglicht hat. Des Weiteren gilt mein Dank den Mitarbeiterinnen des Labors der Rheumatologie in Lübeck, Dr. Anja Kerstein-Stähle, Gabriele Marschner, Dr. Antje Müller und Silke Pitann für deren geduldige Einarbeitung sowie fachliche und moralische Unterstützung sowie Susanne Riepe für die gute Zusammenarbeit bei der Datensammlung. Ebenso gilt mein Dank Prof. Inke König für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung meiner Daten sowie Finn Lübber für die Visualisierung der Spearman-Korrelationsanalysen. Des Weiteren möchte ich Prof. Jan Schildmann von der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg danken, der die Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt hat. Nicht zuletzt gilt mein Dank insbesondere auch allen Studienteilnehmer*innen, die durch ihr Vertrauen und die Bereitschaft zur Teilnahme diese Studie ermöglicht haben. Zudem möchte ich Lucy Kappes danken für ihre Freundschaft und die kollegiale Zusammenarbeit sowie meinen Eltern und meiner Schwester für ihre Unterstützung. Zuletzt möchte ich vor allem Sebastian Kraft danken, für seine langjährige Begleitung, unendliche Geduld und Unterstützung.

9 Lebenslauf

Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen Version der Dissertation entfernt.