



## Mi-2-Autoantikörper

**Indikationen** Differenzialdiagnose, Klassifikation und prognostische Bewertung idiopathischer entzündlicher Myopathien bei Kindern und Erwachsenen.

Die Untersuchung ist nur bei einem positiven Immunfluoreszenztest auf antinukleäre Antikörper (Zelkern-Autoantikörper) mit mittelhohen Antikörpertitern (1 : > 320 bis zu etwa 1 : 5.120) und bei entsprechendem klinischen Verdacht indiziert.

**Siehe auch**

- ▶ [Autoantikörper bei entzündlichen idiopathischen Myopathien](#)
- ▶ [Autoantikörper-Tabelle - Kollagenosen, Arthritis, Vaskulitis](#)
- ▶ [Myositis -spezifische und -assoziierte Autoantikörper](#)

**Immunpathologie** Nach bisherigen Untersuchungen gehören die Mi-2-Autoantikörper dem Isotyp IgG an. Über Vorkommen und Verteilung anderer Ig-Isotypen oder -Subtypen liegen keine Untersuchungen vor. Die Ursache der Entstehung von Mi-2-Autoantikörpern ist nicht bekannt. Vermutlich entstehen sie im Gefolge einer pathogenen Antigenstimulierung, möglicherweise im Rahmen der Apoptose oder regenerativer Prozesse. Auch Umweltfaktoren und genetische Einflüsse scheinen die Entstehung der Myositiden und ihrer assoziierten Antikörper zu beeinflussen. Umwelteinflüsse wie der geographische Breitengrad und die UV-Bestrahlung scheinen insofern einen Einfluss auszuüben, als die Dermatomyositis häufiger in südlichen Ländern vorkommt (Hengstman et al. 2000; Okada et al. 2003). Die Prävalenz der Mi-2-Autoantikörper in den verschiedenen Bevölkerungsgruppen scheint diese geografische Verteilung widerzuspiegeln (Brouwer et al. 2001; Okada et al. 2003). Die Beteiligung genetischer Faktoren wird dadurch belegt, dass eine deutliche Korrelation zwischen dem Auftreten von Mi-2-Autoantikörpern und dem HLA-Merkmal DR7 besteht (Love et al. 1991; Mierau et al. 1996), wobei insbesondere einem Tryptophanylrest in Position 9 der HLA-DR-β-Kette eine ätiologische Bedeutung zukommen könnte (Mierau et al. 1996). Möglicherweise spielen auch regenerierende Myozyten eine Rolle bei der Entstehung der Autoantikörper. Regenerierende Myozyten von Patienten mit Dermatomyositis exprimieren 10-mal mehr Mi-2-Antigene als gesunde Myozyten (Casciola-Rosen et al. 2005). Auch HLA-Klasse I-Moleküle werden in Myozyten bei Dermatomyositis und Polymyositis, nicht aber im gesunden Muskel exprimiert. So wäre es denkbar, dass im Gefolge von Muskelschäden unterschiedlichster Ätiologie Muskelzellen regenerieren und vermehrt Mi-2 exprimieren und dadurch bei genetisch entsprechend disponierten Personen eine Autoimmunantwort in Gang setzen, die wiederum eine zell- oder antikörpervermittelte Schädigung des Antigenlieferanten, der regenerierenden Muskelzelle auslösen könnte. Auch im Tumorgewebe Myositis-assoziiertes Karzinome (Mammatumoren, Leberzellkarzinom, Adenokarzinom der Lunge) wurde eine bis um den Faktor 50 gesteigerte Mi-2-Expression gemessen (Casciola-Rosen et al. 2005).

**Antigen** Autoantikörper gegen das Mi-Antigen wurden erstmals 1976 mit der Komplementbindungsreaktion (KBR) bei einer Patientin mit Dermatomyositis gefunden (Reichlin und Mattioli 1976). Das Prototyp-Serum zeigte in der Agardoppeldiffusion nach Ouchterlony mit Kalbsthymus-extrakten zwei Präzipitationslinien (Mi-1, Mi-2) (Nishikai und Reichlin 1980), von denen aber nur die zweite Linie (Mi-2) durch die Reaktion des Antigens mit den komplementfixierenden Antikörpern hervorgerufen wurde. Das korrespondierende Antigen wurde daher Mi-2 genannt (Targoff und Reichlin 1985). Biochemische Untersuchungen ergaben, dass es sich bei dem Antigen um ein etwa 240 kDa großes Protein eines Multiproteinkomplexes handelte (Nilasena et al. 1995). Molekulargenetische Untersuchungen ermöglichten die Charakterisierung von zwei autoantigenen Mi-2-Proteinen, dem Mi-2α (Ge et al. 1995) und Mi-2β (Seelig et al. 1995). Es handelt sich zwar um zwei verschiedene Proteine, die aber 15 identische Sequenzfolgen besitzen, die jeweils 7 bis 32 Aminosäuren umfassen (Seelig et al. 1996). Insgesamt beträgt die Identität der beiden Proteine 75 %, sodass Mi-2α und Mi-2β identische immunreaktive Epitope

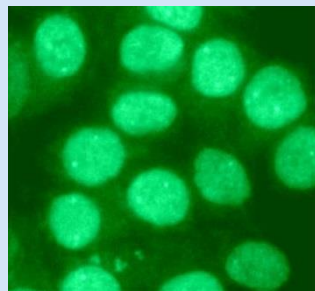


## Mi-2-Autoantikörper

ausbilden können, die von den Mi-2-Autoantikörpern erkannt werden. Von Mi-2 $\alpha$  existieren drei alternativ gespleißte Isotypen (Isotyp 1: M<sub>r</sub> 226,59 kDa, 2.000 Aminosäuren (aa); Isotyp 2: M<sub>r</sub> 222,86 kDa, 1966 aa; Isotyp 3: M<sub>r</sub> 231,36 kDa, 2045 aa) deren Gen auf Chromosom 17p13.1 liegt. Von Mi-2 $\beta$  sind zwei Isoformen bekannt (Isoform 1: M<sub>r</sub> 217,99 kDa, 1912 aa; Isoform 2: M<sub>r</sub> 220,83 kDa, 1940 aa), ihr Genort liegt auf Chromosom 12p13.

Mi-2 $\alpha$  und Mi-2 $\beta$  sind Mitglieder der CHD-Proteinfamilie, die Chromo-Domänen (**chromatin organization modifier**) und SNF-2-ähnliche Helicase-/ATPase-Domänen enthalten. Mi-2 $\alpha$  und Mi-2 $\beta$  erhielten die offizielle Bezeichnung CHD3 (**chromodomain helicase DNA binding Protein 3**) und CHD4 (**chromodomain helicase DNA binding Protein 4**), da sie eine Chromo-Domäne, eine Helicase-Domäne und eine DNA-Bindungsdomäne besitzen (Woodage et al. 1997). Mi-2 $\beta$  ist eine essentielle Untereinheit eines **Nukleosomen-Remodellierungs- (remodeling) und Deacetylase-Komplexes (NuRD)** (Zhang et al. 1998).

Diese NuRD-Multiproteinkomplexe katalysieren epigenetische Änderungen der Chromatinstruktur (der Nukleosomen) und hemmen oder fördern dadurch den Zugang von Transkriptionsfaktoren zu der DNA. Sie wirken auf diese Weise als Transkriptionsaktivatoren oder -Repressoren. Das im NuRD-Komplex vorhandene Mi-2 $\beta$  kann sowohl mit Transkriptionsaktivatoren (N-Terminus) als auch mit Transkriptionsrepressoren (C-Terminus) interagieren (Shimono et al. 2003). Es modifiziert das Chromatin durch ATPase-abhängige Prozesse. Rekombinantes Mi-2 $\beta$  ist allein schon in der Lage, Chromatin zu remodellieren (Wang und Zhang 2001). NuRD/Mi-2-Komplexe können durch die in ihnen vorhandene Histondeacetylase Histon-DNA-Bindungen beeinflussen. Sie beteiligen sich an der Genregulation in Abhängigkeit von der DNA-Methylierung (Zhang et al. 1999). Die NuRD/Mi-2-Komplexe enthalten heterogene Untereinheiten, wodurch sie eine von Zelltyp und physiologischen Gegebenheiten abhängige funktionelle Spezialisierung erlangen (Bowen et al. 2004). Das würde auch erklären, dass Mi-2 $\alpha$  ebenfalls in solchen Komplexen nachgewiesen wurde (Xue et al. 1998).



**Abbildung 2**

Mi-2-Autoantikörper  
Feingranuläre Fluoreszenz des Nukleoplasma nach Inkubation mit anti-Mi-2-positivem Patientenserum. Indirekter immunfluoreszenztest mit HEp-2-Zellen.

Objektivvergrößerung 40-fach

Aus Seelig et al. 1995

Mi-2 ist ausschließlich im Nukleoplasma lokalisiert ([Abbildung 2](#)). Anti-Mi-2-positive Seren ergeben im IIFT auf HEp-2-Zellen mittelhohe ANA-Titer (1 : > 320 - 1 : 5.120). Die Antikörper zeigen ein gleichmäßiges, fein gesprenkeltes nukleäres Fluoreszenzmuster, das im allgemeinen die Nukleoli und die Metaphase-Chromosomen ausspart ([ANA-Fluoreszenzmuster](#)). Eine zytoplasmatische Färbung findet sich mit monospezifischen Seren nicht (Targoff und Reichlin 1985; Seelig et al. 1995; Mierau et al 1996).

### Autoantikörper

Mi-2-Autoantikörper gelten als spezifische Marker idiopathischer entzündlicher Myopathien. Mit nativen Antigenpräparationen ließen sich mittels Immundiffusion, Radioimmunpräzipitation, Elisa und/oder Westernblot (Targoff und Reichlin 1985; Love et al.1991; Rider et al. 1994; Nilasena et al. 1995; Feldman et al. 1996; Ghirardello et al. 2005) Mi-2-Autoantikörper, von einer Studie abgesehen (Targoff und Reichlin 1985), nur bei Patienten mit Dermatomyositis nachzu-



## Mi-2-Autoantikörper

weisen (Tabelle 1), weswegen sie als spezifische Marker für dieses Krankheitsbild angesehen wurden. Mit einem Elisa, das vier überlappende, rekombinante Mi-2 $\beta$ -Proteine verwendete, welche die gesamte Länge des Moleküls überspannten, wurden sowohl bei Patienten mit Dermatomyositis (21 %) als auch bei Patienten mit Polymyositis (9 %) und Einschlusskörper-Myositis (8 %) Mi-2-Autoantikörper nachgewiesen (Roux et al. 1998; Brouwer et al. 2001; Hengstman et al. 2002). Dies ist umso bedeutender, als sich die Pathogenese von Dermatomyositis, Polymyositis und Einschlusskörpermyositis erheblich unterscheiden (Dalakas und Hohfeld 2003). Ob das mit diesem Rekombinanten-Elisa erfasste breitere Krankheitsspektrum der Autoantikörper auf einer höheren Sensitivität des Tests beruht oder auf einer geringeren Spezifität der rekombinanten Proteine, müssen künftige Untersuchungen zeigen. Die mit dem Rekombinanten-Elisa bei der Dermatomyositis bestimmte Antikörperprävalenz entspricht der, die mit nativen Antigenen erhalten wurde. Anhand früherer Untersuchungen wurde vermutet, dass die Mehrzahl der Mi-2-Autoantikörper mit Konformationsepitopen, nicht aber mit linearen Epitopen rekombinanter Antigene reagiert (Ge et al. 1995). Nach den Ergebnissen, die mit überlappenden rekombinanten Mi-2-Proteinen erhalten wurden, reagiert die Mehrzahl der Mi-2-Autoantikörper aber auch mit nicht konformationellen Epitopen, es sei denn, die rekombinanten Proteine sind zur Rückfaltung und zur Ausbildung konformationeller Strukturen befähigt. Es wäre auch denkbar, dass die bei Patienten mit Polymyositis nachweisbaren Mi-2-Antikörper zwar mit nicht konformationellen Epitopen rekombinanter Proteine reagieren, nicht aber mit nativen Antigenen, die bei früheren Untersuchungen eingesetzt wurden.

Mi-2-Autoantikörper zeigen unterschiedliche Epitopspezifitäten, wobei in der Regel von einem Patienten nur 1 Epitop erkannt wird. Eine Epitopausbreitung der Antikörper (epitope spreading) konnte bisher noch nicht beobachtet werden. 58 % der Seren erkennen Epitope auf dem mittleren Moleküldrittel (Mittelmolekül), 25 % der Seren reagieren mit dem N-terminalen und 14 % mit dem C-terminalen Drittel. Die Epitopspezifität ist allerdings nicht mit bestimmten Formen der Myositis (Dermatomyositis, Polymyositis, Einschlusskörpermyositis) korreliert (Hengstman et al. 2005). Es bestand allerdings dahingehend eine Tendenz, dass Patienten mit Antikörpern gegen das Mittelmolekül häufiger Karzinome entwickelten (Hengstman et al. 2005). Dies widerspricht den früher geäußerten Vermutungen, dass Mi-2-Autoantikörper ein Ausschlusskriterium für eine paraneoplastische Myositis darstellen (Targoff et al. 1985; Love et al. 1991; Hill et al. 2001; Targoff 2002; Ghirardello et al. 2005). Dies korreliert insofern mit dem beobachteten, allerdings nicht statistisch signifikanten Trend, dass Patienten mit Dermatomyositis ebenfalls häufiger Antikörper gegen das Mittelmolekül besaßen und solche mit Polymyositis häufiger mit dem N-terminalen Fragment reagierten (Hengstman et al. 2005). Nach den heutigen Befunden kann davon ausgegangen werden, dass Mi-2-Autoantikörper zwar einen sehr spezifischen Marker für idiopathische entzündliche Myopathien darstellen, jedoch nicht für eine bestimmte Form der Myositis.

Bisher wurden noch keine Untersuchungen über eine mögliche Korrelation zwischen Antikörperkonzentration und Krankheitsverlauf oder Krankheitsaktivität durchgeführt. Bei Kindern scheinen die Sensitivität und die Spezifität der Mi-2-Autoantikörper bezüglich der Diagnose idiopathischer entzündlicher Myopathien den Gegebenheiten der Erwachsenen zu entsprechen (Rider et al. 1994; Feldman et al. 1995).

### Vorkommen

Mi-2-Autoantikörper zählen zu den Myositis-spezifischen Autoantikörpern, serologischen Markern idiopathischer entzündlicher Myopathien wie Dermatomyositis und Polymyositis (Love et al. 1991; Targoff et al. 1997; Brouwer et al. 2001; Hengstman et al. 2002). Methodenabhängig beträgt ihre Prävalenz bei der Dermatomyositis 5-33 %, bei der Polymyositis 0 - 10 % und bei der Einschlusskörpermyositis 0 - 8 % (Brouwer et al. 2001). Ihre Spezifität für diese Krankheitsgruppe liegt bei über 97 % (Targoff und Reichlin 1985; Rider et al. 1994; Seelig et al. 1995). Ebenfalls sehr hoch wurde früher ihr prädiktiver Wert für die Diagnose der Dermatomyositis



## Mi-2-Autoantikörper

eingestuft, da über 90 % der anti-Mi-2-positiven Patienten an einer Dermatomyositis erkrankt waren (Love et al. 1991).

### Prognostische Bedeutung

Myositiden mit Mi-2-Autoantikörpern zeigen einen allgemein milderen Verlauf. Sie scheinen gut auf eine Steroid-Therapie anzusprechen und haben eine relativ gute Prognose (Love et al. 1991; Mierau et al. 1996).

### Literatur

Seelig HP, Moosbrugger I, Renz M, Genth E: Mi-2 Autoantigen - A novel 218 kD Helicase encoded on Chromosome 12. 5th European Workshop for Rheumatology Research. Erlanger/Bamberg, March 16 - 19 Abstracts. *Clini Rheum* (1995); 14 (2): 244 (PMID [7789071](#)).

Bohan A, Peter IB: Polymyositis and dermatomyositis. *N Eng J Med* (1975); 292: 344 - 347 (PMID [1090839](#)).

Bowen, NJ, Fujita, N, Kajita, M, Wade, PA: Mi-2/NuRD: multiple complexes for many purposes. *Biochim Biophys Acta* (2004); 15: 52 - 57 (PMID [15020045](#)).

Brouwer R, Hengstmam GJ, Vree Egberts W, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A, Grondal G, Hietarinta M, Isenberg D, Kalden JR, Lundberg I, Moutsopoulos H, Roux-Lombard P, Vencovsky J, Wilkman A, Seelig HP, Van Engelen BG, Van Venrooij WJ: Autoantibodies profiles in the sera of European patients with myositis. *Ann Rheum Dis* (2001); 60: 116 - 123 (PMID [11156543](#)).

Casciola-Rosen L, Nagaraju K, Plotz P, Wang K, Levine S, Gabrielson E, Corse, A, Rosen A: Enhanced autoantigen expression in regenerating muscle cells in idiopathic inflammatory myopathy. *J Exp Med* (2005); 201: 591 - 601 (PMID [15728237](#)).

Dalakas MC, Hohlfeld R: Polymyositis and dermatomyositis. *Lancet* (2003); 362: 971 - 982 (PMID [14511932](#)).

Feldman BM, Reichlin M, Laxer RM, Targoff IN, Stein LD, Silverman ED: Clinical significance of specific autoantibodies in juvenile dermatomyositis. *J Rheumatol* (1996); 23: 1.794 - 1.797 (PMID [8895161](#)).

Ge Q, Nilasena DS, O'Brien CA, Frank MB, Targoff IN: Molecular analysis of a major antigenic region of the 240-kD protein of Mi-2 autoantigen. *J Clin Invest* (1995); 96: 1.730 - 1.737 (PMID [7560064](#)).

Ghirardello A, Zampieri S, Iaccarino L, Tarricone E, Tonello M, Bendo R, Rondinone R, Cozzi F, Doria A: Myositis specific and myositis associated autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathies: a serologic study of 46 patients. *Reumatismo* (2005); 57: 22 - 28 (PMID [15776143](#)).

Hausmanowa-Petrusewicz I, Kowalska-Oledzka E, Miller FW, Jarzabek-Chorzelska M, Targoff IN, Blaszczyk-Kostanecka M, Jablonska S: Clinical, serologic, and immunogenetic features in Polish patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* (1997); 40: 1.257 - 1.266 (PMID [9214426](#)).

Hengstman GJD, Vree Egberts WTM, Seelig HP, Lundberg IE, Moutsopoulos HM, Doria A, Mosca M, Vencovsky J, van Venrooij WJ, van Engelen BGM: Clinical characteristics of patients with myositis and autoantibodies to different fragments of the Mi-2 beta antigen. *Ann Rheum Dis* (2006); 65(2) : 242 - 245 (PMID [16410528](#)).

Hengstman GJ, Brouwer R, Egberts WT, Seelig HP, Jongen PI, Van Venrooij WJ, Van Engelen BG: Clinical and serological characteristics of 125 Dutch myositis patients. *Myositis specific*



## Mi-2-Autoantikörper

autoantibodies aid in the differential diagnosis of the idiopathic inflammatory myopathies. *J Neurol* (2002); 249: 69 - 75 (PMID [11954871](#)).

Hengstman GJD, Van Venrooij WJ, Vencovsky J, Moutsopoulos HM, Van Engelen BGM: The relative prevalence of dermatomyositis and polymyositis in Europe exhibits a latitudinal gradient. *Ann Rheum Dis* (2000); 59: 141 - 142 (PMID [10666171](#)).

Hengstman GJD, Vree Egberts WTM, Seelig HP, Lundberg IE, Moutsopoulos HM, Doria A, Mosca M, Vencovsky J, van Venrooij WJ, van Engelen BGM: Clinical characteristics of patients with myositis and autoantibodies to different fragments of the Mi-2 beta antigen. *Ann Rheum Dis* (2006); 65(2): 242 - 245 (PMID [16410528](#)).

Hill CL, Zhang Y, Sigurgeirsson B, Pukkuda E, Mellekjær L, Airio A, Evans SR, Felson DT: Frequency of specific cancer types in dermatomyositis and polymyositis: a population-based study. *Lancet* (2001); 357: 96 - 100 (PMID [11197446](#)).

Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas M, Plotz PH, Miller FW: A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Med Baltimore* (1991); 70: 360 - 374 (PMID [1659647](#)).

Mierau R, Dick T, Bartz-Bazzanella P, Keller E, Albert ED, Genth E: Strong association of dermatomyositis specific Mi-2 autoantibodies with a tryptophan at position 9 of the HLA- DR $\beta$  chain. *Arthritis Rheum* (1996); 39: 868 - 876 (PMID [8639185](#)).

Nilasena DS, Trieu EP, Targoff IN: Analysis of the Mi-2 autoantigen of dermatomyositis. *Arthritis Rheum* (1995); 38: 123 - 128 (PMID [7818561](#)).

Nishikai M, Reichlin M: Purification and characterization of a nuclear non-histone basic protein (Mi-1) which reacts with anti-immunoglobulin sera and the sera of patients with dermatomyositis. *Mol Immunol* (1980); 17: 1.129 - 1.141 (PMID [6777667](#)).

Okada S, Weatherhead E, Targoff IN, Wesley R, Miller FW: Global surface ultraviolet radiation intensity may modulate the clinical and immunologic expression of autoimmune muscle disease. *Arthritis Rheum* (2003); 48: 2.285 - 2.293 (PMID [12905483](#)).

Reichlin M, Mattioli M: Description of a serological reaction characteristic of polymyositis. *Clin Immunol Immunopathol* (1976); 5: 12 - 20 (PMID [1261095](#)).

Rider LG, Miller FW, Targoff IN, Sherry DD, Samayoa E, Lindahl M, Wener MH, Pachman LM, Plotz PH: A broadened spectrum of juvenile myositis. Myositis-specific autoantibodies in children. *Arthritis Rheum* (1994); 10: 1.534 - 1.538 (PMID [7945480](#)).

Roux S, Seelig HP, Meyer O: Significance of Mi-2 autoantibodies in polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol* (1998); 25: 395 - 396 (PMID [9489847](#)).

Seelig HP, Moosbrugger I, Ehrfeld H, Fink T, Renz M, Genth E: The major dermatomyositis-specific Mi-2 autoantigen is a presumed helicase involved in transcriptional activation. *Arthritis Rheum* (1995); 38: 1.389 - 1.399 (PMID [7575689](#)).

Seelig HP, Renz M, Targoff IN, Ge Q, Frank MB: Two forms of the major antigenic protein of the dermatomyositis-specific Mi-2 autoantigen. *Arthritis Rheum* (1996); 39: 1.769 - 1.771 (PMID [8843877](#)).

Shimono Y, Murakami H, Kawai K, Wade PA, Shimokata K, Takahashi M: Mi-2 beta associates with BRG1 and RET finger protein at the distinct regions with transcriptional activating and repressing abilities. *J Biol Chem* (2003); 278: 51.638 - 51.645 (PMID [14530259](#)).



## Mi-2-Autoantikörper

Targoff IN: Laboratory testing in the diagnosis and management of idiopathic inflammatory myopathies. *Rheum Dis Clin North Am* (2002); 28: 859 - 890 (PMID [12506776](#)).

Targoff IN, Miller FW, Medsger TA, Oddis CV: Classification criteria for the idiopathic inflammatory myopathies. *Curr Opin Rheumatol* (1997); 9: 527 - 535 (PMID [9375282](#)).

Targoff IN, Reichlin M: The association between Mi-2 antibodies and dermatomyositis. *Arthritis Rheum* (1985); 28: 796 - 803 (PMID [2409985](#)).

Wang HB, Zhang Y: Mi2, an auto-antigen for dermatomyositis, is an ATP-dependent nucleosome remodeling factor. *Nucleic Acid Res* (2001); 15: 2.517 - 2.521 (PMID [11410659](#)).

Woodage T, Basrai MA, Baxevanis D, Hieter P, Collins FS: Characterization of the CHD family of proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1997); 94: 11.472 - 11.477 (PMID [9326634](#)).

Xue Y, Wong J, Moreno GT, Young MK, Cote J, Wang W: NURD, a novel complex with both ATP-dependent chromatin-remodeling and histone deacetylase activities. *Mol Cell* (1998); 2: 851 - 861 (PMID [9885572](#)).

Zhang Y, LeRoy G, Seelig HP, Lane WS, Reinberg D: The dermatomyositis-specific autoantigen Mi2 is a component of a complex containing histone deacetylase and nucleosome remodeling activities. *Cell* (1998); 95: 279 - 289 (PMID [9790534](#)).

Zhang Y, Ng HH, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Bird A, Reinberg D: Analysis of the NuRD subunits reveals a histone deacetylase core complex and a connection with DNA methylation. *Genes Dev* (1999); 13: 1.924 - 1.935 (PMID [10444591](#)).