



Autoimmunerkrankungen

Autoantikörper-Stufendiagnostik bei Autoimmunerkrankungen

Wissenschaftlich-medizinischer Hintergrund

Stufe 1: Antikörper-Screening mittels IFT – ein multi-spezifischer Suchtest

Die Stufendiagnostik bei Verdacht auf eine systemische Autoimmunerkrankung beginnt mit der Bestimmung von Autoantikörpern (AAk) gegen Zellkerne, auch **ANA (antinukleäre Antikörper)** genannt. Die AAK Bestimmung gegen intrazelluläre Strukturen (Kern und Zytoplasma) wird mittels indirekter **Immunfluoreszenztechnik (IFT)** auf Objektträgern mit fixiertem mitotisch aktivem Zellmaterial (HEp-2-Zellen und Primatenleberzellen) erfasst. Die Antikörper im Patientenserum binden dabei spezifisch an ihre intrazelluläre Zielstruktur und werden mittels fluoreszenzmarkiertem Anti-human IgG sichtbar gemacht. Bei einem positiven Test (Titer 1:>80) wird eine Untersuchung mit serieller Verdünnung des Patientenserums (Austitrierung bis Titer 1:>10.240) angeschlossen. Je nach Antigenlokalisation ergibt sich für jeden ANA ein charakteristisches Fluoreszenzmuster, das zusätzlich zum ANA-Titer im Befund angegeben wird.

Da die Membran vitaler Zellen für freie Antikörper grundsätzlich impermeabel ist, spielen die entsprechenden Autoantikörper nach vorhergehender Sensibilisierung in der diagnostischen Relevanz für systemische Autoimmunerkrankungen des rheumatischen Formenkreises, insbesondere für Kollagenosen, eine wichtige Rolle.

Ein negatives Testergebnis stellt aufgrund der hohen Sensitivität ein nahezu sicheres Ausschlusskriterium für einige Kollagenosen (z.B. SLE und Mischkollagenose/SHARP-Syndrom) dar (hohes negatives prädiktives Ergebnis). Jedoch sollte hier immer die zusätzliche Bestimmung der SS-A/Ro-Ak erfolgen, da bekannt ist, dass ANA, die sich gegen das Antigen SS-A/Ro richten, in der IFT nicht immer erfasst werden (Häufigkeit >2%). Hier ist eine spätere Verlaufs-Wiederholung des ANA-Tests empfohlen. ANA kommen nicht nur bei systemischen Autoimmunerkrankungen, z. B. Kollagenosen wie SLE oder RA, sondern auch bei organspezifischen

Autoimmunerkrankungen wie der autoimmunen Hepatitis, bei vielen Infektionserkrankungen sowie ggf. bei gesunden Personen vor.

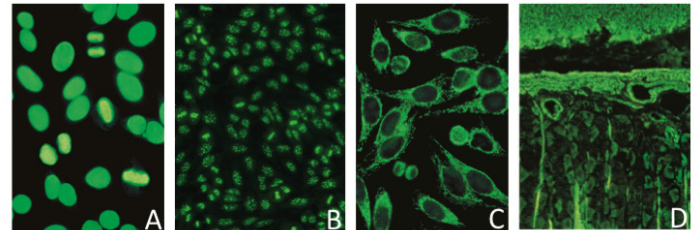


Abbildung 1: Beispiele für positive Fluoreszenzmuster.

A ANA, homogenes Muster; B ANA, Zentromere;
C AMA, Mitochondrien; D ASMA (Bilder: EUROIMMUN AG).

Stufe 2: ENA-Screen (Pool) und AMA, ASMA, LKM, Parietalzellen:

Positive ANA lassen je nach Art und Titer bestimmte Hinweise auf den/die zugrundeliegenden Autoantikörper bzw. Erkrankung zu. 95-99 % aller SLE-Patienten und 30 % aller RA-Patienten sind ANA positiv. Die hohe Sensitivität korreliert allerdings mit einer nur geringen Spezifität. Auch bei Gesunden, vor allem bei älteren Patienten (>60 Jahre) sind niedrigtitrige ANA nachweisbar, allerdings ohne pathogene Relevanz. Sie können jedoch den Beginn oder die Remission einer Kollagenose oder einer autoimmunen Lebererkrankung anzeigen (jährliche Kontrolle!). Bei einem positiven Antikörpernachweis ab einem Titer von 1:320 sollte in einem zweiten Schritt, je nach Fluoreszenzmuster und diagnostischer Fragestellung, eine weitere gezielte Differenzierung der Subtypen erfolgen:

- Bei einem Kernfluoreszenzmuster und bei möglichen Überlappungen ist die Bestimmung von Antikörpern gegen **ENA (extrahierbare nukleäre Antigene)** empfohlen. Der **ENA-Screen (Pool)** ist ein ELiA-Testsystem (Enzymimmunoassay) zur qualitativen in vitro Bestimmung von IgG-Antikörpern und stellt eine Hilfe bei der klinischen Diagnose von SLE, Mischkollagenose, Sjögren-Syndrom, Sklerodermie und Polymyositis/Dermatomyositis dar. Der ENA-Screen ist ein Gemisch aus den Antigenen



humanen rekombinanten U1-snRNP (RNP70, A, C), SS-A/Ro (60 kDa, 52 kDa), SS-B/La, CENP-B, Scl-70, und Jo-1 Proteinen sowie mit synthetischen SmD Peptiden. Bei einem positiven Ergebnis erfolgt automatisch die Differenzierung der Reaktivität (Stufe 3, monospezifischer Test).

- Bei einem homogenen Muster oder bei positiven Chromosomen im Mitosestadium empfiehlt sich zusätzlich die Bestimmung von dsDNA-Antikörpern. Der dsDNA-Antikörper ist ein krankheitsspezifischer Autoantikörper bei SLE und wird mit einer Prävalenz von 70-90 % festgestellt.
- Bei einem rein zytoplasmatischen Fluoreszenzmuster empfiehlt sich die Bestimmung von **antimitochondrialen Autoantikörpern (AMA), AK gegen Leber-Niere-Mikrosomen (LKM) und Autoantikörper gegen glatte Muskulatur (ASMA) sowie Parietalzellen**. Diese Autoantikörper-Spezifitäten können auf einen speziellen IFT Organschnitt (fixierten Leber-, VSM47-, Niere- und Magenzellen) bestätigt werden.

Stufe 3: Monospezifischer Test - Autoantikörper Subtypenbestimmung

Bei einem positiven ENA-Screen sollte in einem dritten Schritt eine entsprechende Differenzierung der Subtypen erfolgen, da diese Autoantikörper eine z.T. deutlich höhere Krankheitsspezifität besitzen (s. Tab. 1):

Subtyp	mögliche Krankheitsassoziation
dsDNA-Ak	SLE
SS-A/Ro-Ak	Sjögren-Syndrom, SLE
SS-B/La-Ak	Sjögren-Syndrom, SLE
Scl-70-Ak	Sklerodermie
CENP-B-Ak	CREST-Syndrom
CENP-B-Ak + AMA	PBC-Overlap
RNP70-Ak	Sharp-Syndrom, MCTD
U1-snRNP-Ak	Sharp-Syndrom, MCTD, SLE
Jo-1-Ak	Myositis, Anti-Synthetase Syndrom
SmD-Ak	SLE
DFS70-Ak	Exklusionsmarker
AMA-M2-Ak	PBC
Intrinsic Faktor-Ak	Vitamin B12-Mangel, Perniziöse Anämie, Neuropathie
Parietalzell-Ak	Chronisch-atrophische Gastritis, > 60 Jahre ggf. physiologisch

Subtyp	mögliche Krankheitsassoziation
Aktin-Ak	Autoimmunhepatitis, ausschl. Virushepatitis notwendig
LKM-1-Ak	Autoimmunhepatitis, ausschl. Virushepatitis notwendig

Tabelle 1: Subtypen und mögliche Krankheitsassoziation.

SLE: systemischer Lupus erythematoses, CREST: Calcinose, Raynaud, Oesophagusdysmotilität, Sklerodaktylie, Teleangiektasien; PBC: primäre biliäre Zirrhose

- **ENA-Profil** (monospezifischer Test mittels ELiA) von humanen rekombinanten U1-snRNP (RNP70, A, C), SS-A/Ro (60 kDa, 52 kDa), SS-B/La, CENP-B, Scl-70, und Jo-1 Proteinen sowie mit synthetischen SmD Peptiden.
- Weitere mögliche AAK-Einzelparameter: **RNP70** und **DFS70** (Exklusionsmarker).
- Bei einem zytoplasmatischen Fluoreszenzmuster kann eine Subtypenbestimmung der AAK gegen **Aktin, AMA M2-Protein sowie Parietalzellen (Intrinsic Faktor und H⁺/K⁺ ATPase)** erfolgen.
- Je nach Fragestellung können hier auch zusätzlich spezielle Immunoblots (z.B. Myositis-/ Sklerodermie-Profile) folgen.

Klinische Relevanz

In verschiedenen retrospektiven und prospektiven Studien für einige AAK konnte zudem gezeigt werden, dass diese Monate bis Jahre vor den klinischen Symptomen der entsprechenden Autoimmunerkrankung bereits nachweisbar sind. Diese Patienten sind dementsprechend engmaschig zu kontrollieren, um frühzeitig eine Therapie einleiten zu können.

- RF und CCP können Jahre vor der Manifestation der RA nachweisbar sein. Besonders hoch ist das Risiko einer RA-Entwicklung, wenn beide Autoantikörper erhöht auftreten.
- Bei 88% der SLE-Patienten konnte gezeigt werden, dass mindestens einer der SLE AAK (ANA, dsDNA, SS-A/Ro, SS-B/La, SmD oder U1-snRNP) bereits bis zu drei Jahre vor der Manifestation nachweisbar ist.



Indikation

Der Autoantikörper-IFT sollte bei einem klinischen Verdacht auf systemische Autoimmunerkrankungen, z.B. Kollagenosen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und Autoimmunhepatitiden erfolgen.

Präanalytik

Probenmaterial: 1 ml Serum
 (Nachforderung möglich innerhalb: 2 Wochen)
 Analysenhäufigkeit: 1-2 mal pro Woche

Die Autoantikörper-Diagnostik bei systemischen Autoimmunerkrankungen ist ein mehrstufiger Prozess:

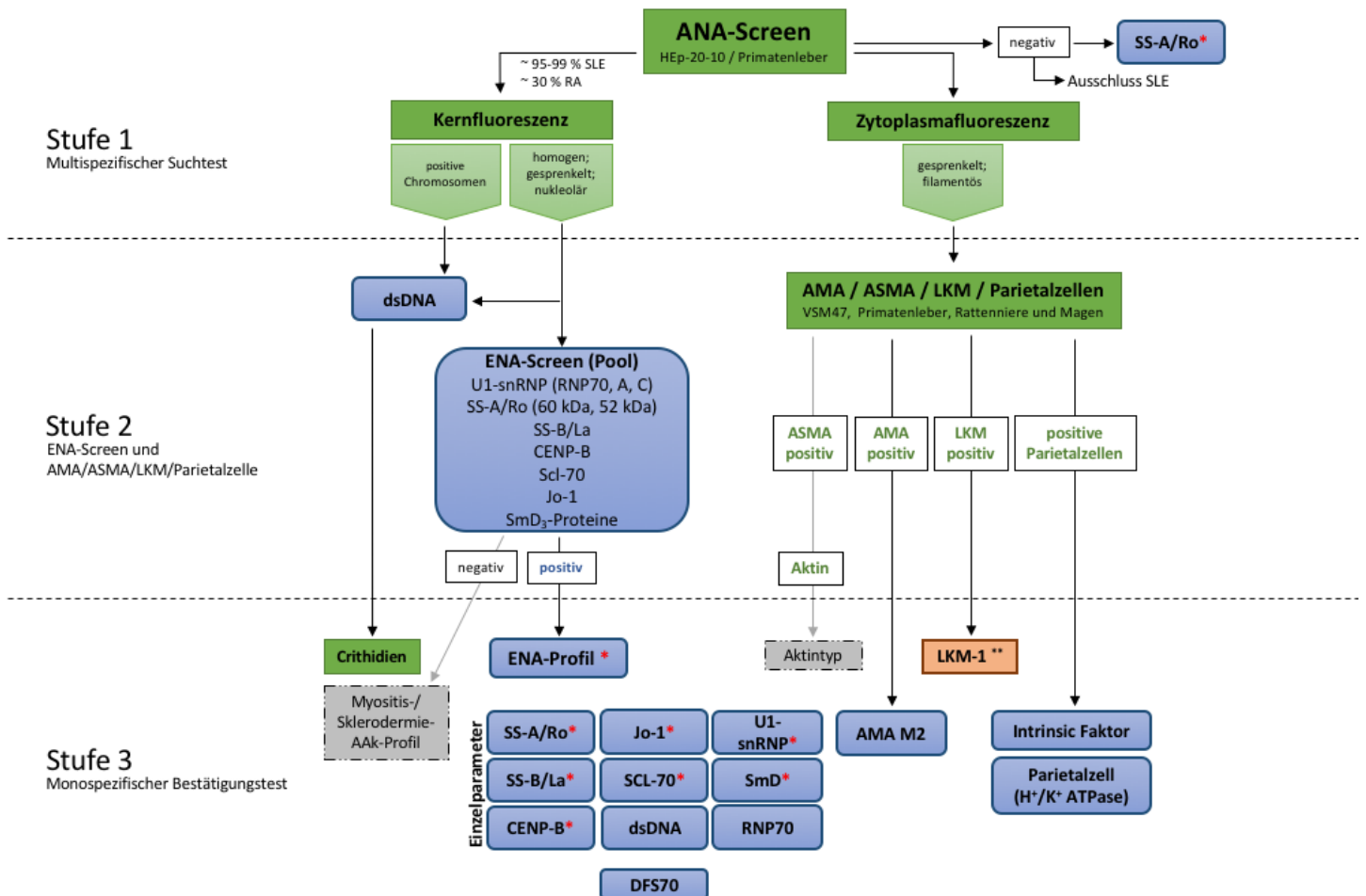


Abbildung 2: Modell der Autoantikörper-Stufendiagnostik bei Verdacht auf eine systemische Autoimmunerkrankung.

Stufe 1 ANA-Screening mittels IFT (multispezifisch).

Stufe 2 ENA-Screen (ELiA) und AMA/ASMA/LKM/Parietalzellen (IFT).

Stufe 3 AAK-Subtypenbestimmung (monospezifisch).

Testprinzip: grün = IFT, blau = ELiA, orange = Blot; grau = Fremdversand von speziellen Anfragen (Blot, IFT, AAK).

*diese AAK Subtypen sind im ENA-Profil enthalten; **Leberblot.

Fragen?

Ihr Kontakt zu uns:

Telefonkontakt: +49.89.895578-0

E-Mail: info@medizinische-genetik.de

Autoren:

Dr. rer. nat. Isabelle Hodak

Dr. med. Manfred Wick

