

Lexikon Autoimmun- Diagnostik

Quelle: Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Axel M. Gressner und Torsten Arndt (Hrsg.). Springer-Verlag Heidelberg, 2. Auflage, 2013

Inhaltsverzeichnis

ANNA-3	7
Antikörper gegen Gliadin (Z-AGFA)	8
Antikörper gegen Interferon- β	10
Antikörper gegen <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
Antikörper gegen Spermatozoen	13
Autoantikörper	15
Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen	17
Autoantikörperbildung	20
Autoantikörper gegen Acetylcholin-Rezeptoren	21
Autoantikörper gegen α -Fodrin	22
Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen	23
Autoantikörper gegen Amphiphysin	25
Autoantikörper gegen Annexin A5	26
Autoantikörper gegen Aquaporin-4	27
Autoantikörper gegen Asialoglykoprotein-Rezeptoren (ASGPR)	29
Autoantikörper gegen Augenmuskelproteine	30
Autoantikörper gegen BPI	32
Autoantikörper gegen C1q	33
Autoantikörper gegen Calciumkanäle	35
Autoantikörper gegen Cardiolipin	37
Autoantikörper gegen CENP-F	38
Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP)	40
Autoantikörper gegen Desmosomen	42
Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS	44
Autoantikörper gegen Einzelstrang-DNS	46
Autoantikörper gegen Elastin	47
Autoantikörper gegen Enterocyten	48
Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran	49
Autoantikörper gegen Erythrocyten	51
Autoantikörper gegen extrahierbare nukleäre Antigene (ENA)	52
Autoantikörper gegen F-Actin	53
Autoantikörper gegen GABA _B -Rezeptoren	54
Autoantikörper gegen Gallengangsepithel	55
Autoantikörper gegen Ganglioside	56
Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase	57
Autoantikörper gegen glatte Muskeln	59
Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran	61
Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase	63
Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren, Typ AMPA	65
Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren, Typ NMDA	66
Autoantikörper gegen Glycin-Rezeptoren	68
Autoantikörper gegen Glycoprotein 210 (GP210)	69
Autoantikörper gegen β 2-Glykoprotein I	70
Autoantikörper gegen Golgi-Apparat-Antigene	71
Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (ANCA, cANCA, pANCA)	72
Autoantikörper gegen Granulocytenmembran	75
Autoantikörper gegen Herz-spezifische Antigene	76
Autoantikörper gegen Histone	78
Autoantikörper gegen Hu	79
Autoantikörper gegen IA2	80
Autoantikörper gegen IgA	81
Autoantikörper gegen IgE-Rezeptoren	82
Autoantikörper gegen Insulin	83
Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen	85
Autoantikörper gegen Intrinsic-Faktor	87

Autoantikörper gegen Kaliumkanäle	89
Autoantikörper gegen Kollagen.....	91
Autoantikörper gegen Ku	92
Autoantikörper gegen Laktoferrin.....	93
Autoantikörper gegen LAMP-2 (Granulocyten)	94
Autoantikörper gegen Leber-Cytosol-Antigen 1	95
Autoantikörper gegen LKM	97
Autoantikörper gegen Ma (Ma1, Ma2/Ta)	99
Autoantikörper gegen Mi-2	100
Autoantikörper gegen Midbody	101
Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA)	103
Autoantikörper gegen Mitose-assoziierte Antigene	106
Autoantikörper gegen Mup44.....	107
Autoantikörper gegen MuSK.....	108
Autoantikörper gegen Myelin	109
Autoantikörper gegen Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG)	110
Autoantikörper gegen Myelin-Oligodendrocyten-Glykoprotein	112
Autoantikörper gegen Myeloperoxidase	113
Autoantikörper gegen Nebennierenrinde	115
Autoantikörper gegen Nebenschilddrüse	117
Autoantikörper gegen Nierentubulus-Basalmembran.....	118
Autoantikörper gegen Nukleoli.....	119
Autoantikörper gegen Nukleosomen.....	121
Autoantikörper gegen NuMA.....	122
Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene	124
Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln.....	129
Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret	131
Autoantikörper gegen Parietalzellen	134
Autoantikörper gegen PCA-2	135
Autoantikörper gegen PCNA.....	136
Autoantikörper gegen Phospholipase-A ₂ -Rezeptoren	138
Autoantikörper gegen Phospholipide	139
Autoantikörper gegen PML	142
Autoantikörper gegen PM-Scl	143
Autoantikörper gegen Proteinase 3.....	145
Autoantikörper gegen quergestreifte Muskeln.....	148
Autoantikörper gegen Ri	149
Autoantikörper gegen Ribosomale Phosphoproteine	150
Autoantikörper gegen Ribosomen.....	151
Autoantikörper gegen Sa	152
Autoantikörper gegen Scl-70	153
Autoantikörper gegen SLA.....	154
Autoantikörper gegen Sm	155
Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge	156
Autoantikörper gegen Spindelapparat.....	157
Autoantikörper gegen SRP54	159
Autoantikörper gegen SS-A	160
Autoantikörper gegen SS-B	162
Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen	163
Autoantikörper gegen Thrombocyten.....	165
Autoantikörper gegen Thyreoglobulin	167
Autoantikörper gegen Thyreoperoxidase	169
Autoantikörper gegen Titin.....	171
Autoantikörper gegen Tr	172
Autoantikörper gegen TSH-Rezeptoren	173
Autoantikörper gegen U1-RNP	175
Autoantikörper gegen Vasopressin-produzierende Zellen.....	177
Autoantikörper gegen Yo	179
Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA)	180

Autoantikörper gegen Zentriolen/Zentrosomen	185
Autoantikörper gegen Zentromere	187
Autoantikörper gegen Zinktransporter ZnT8	189
Autoimmune-Lebererkrankungen-assoziierte Autoantikörper.....	191
Autoimmunität.....	193
Enzymimmuntest	195
Immunblot.....	197
Immunfluoreszenz, indirekte	198
Immunkomplexe, zirkulierende	200
Immunodot	201
Line-Assay.....	202
Lupus-Antikoagulans	203
Myositis-spezifische Autoantikörper.....	204
PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper.....	206
Radioimmunoassay	209
Rheumafaktoren	210

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Antikörper gegen Gliadin.	9
Abb. 2 Antikörper gegen Spermatozoen.	13
Abb. 3 Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen.	18
Abb. 4 Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen.	23
Abb. 5 Autoantikörper gegen CENP-F.	38
Abb. 6 Autoantikörper gegen Desmosomen.	42
Abb. 7 Autoantikörper gegen Desmosomen.	42
Abb. 8 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.	45
Abb. 9 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.	45
Abb. 10 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.	45
Abb. 11 Autoantikörper gegen Elastin.	47
Abb. 12 Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran.	49
Abb. 13 Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran.	49
Abb. 14 Autoantikörper gegen Gallengangsepithel.	55
Abb. 15 Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase.	57
Abb. 16 Autoantikörper gegen Gewebs-transglutaminase.	57
Abb. 17 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin).	59
Abb. 18 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin).	59
Abb. 19 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin).	59
Abb. 20 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin).	59
Abb. 21 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin).	59
Abb. 22 Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran.	61
Abb. 23 Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase.	64
Abb. 24 Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase.	64
Abb. 25 Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren Typ NMDA.	66
Abb. 26 Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren Typ NMDA.	66
Abb. 27 Autoantikörper gegen Golgi-Apparat-Antigene.	71
Abb. 28 Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (Muster cANCA).	73
Abb. 29 Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (Muster pANCA).	73
Abb. 30 Autoantikörper gegen Hu.	79
Abb. 31 Autoantikörper gegen Hu.	79
Abb. 32 Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen (BAk).	85
Abb. 33 Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen (BAk).	85
Abb. 34 Autoantikörper gegen Intrinsic-Faktor.	87
Abb. 35 Autoantikörper gegen Ku.	92
Abb. 36 Autoantikörper gegen Ku.	92
Abb. 37 Autoantikörper gegen Leber-Cytosol-Antigen 1.	95
Abb. 38 Autoantikörper gegen Leber-Nieren-Mikrosomen.	97
Abb. 39 Autoantikörper gegen Leber-Nieren-Mikrosomen.	97
Abb. 40 Autoantikörper gegen Mi-2.	100
Abb. 41 Autoantikörper gegen Midbody.	101
Abb. 42 Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA).	104
Abb. 43 Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA).	104
Abb. 44 Autoantikörper gegen Mitose-spezifische Antigene.	106
Abb. 45 Autoantikörper gegen Myelin.	109
Abb. 46 Autoantikörper gegen Myelin.	109
Abb. 47 Autoantikörper gegen MAG.	110
Abb. 48 Autoantikörper gegen MAG.	110
Abb. 49 Autoantikörper gegen MPO.	113
Abb. 50 Autoantikörper gegen MPO.	113
Abb. 51 Autoantikörper gegen MPO.	113
Abb. 52 Autoantikörper gegen Nebennierenrinde.	115
Abb. 53 Autoantikörper gegen Epithelkörperchen.	117
Abb. 54 Autoantikörper gegen Nierentubulus-Basalmembran.	118
Abb. 55 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-Fibrillarin).	119
Abb. 56 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-RNS-Polymerase I).	119

Abb. 57 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-PM-Scl).....	119
Abb. 58 Autoantikörper gegen Nukleoli.....	119
Abb. 59 Autoantikörper gegen NuMA.	122
Abb. 60 Autoantikörper gegen neuronale Oberflächenantigene.....	127
Abb. 61 Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln.....	129
Abb. 62 Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret.....	132
Abb. 63 Autoantikörper gegen PCNA.	136
Abb. 64 Autoantikörper gegen PM-Scl.....	143
Abb. 65 Autoantikörper gegen PM-Scl.....	143
Abb. 66 Autoantikörper gegen Proteinase 3.	145
Abb. 67 Autoantikörper gegen Proteinase 3.	145
Abb. 68 Autoantikörper gegen quergestreifte Muskulatur.	148
Abb. 69 Autoantikörper gegen quergestreifte Muskulatur.	148
Abb. 70 Autoantikörper gegen Ri.....	149
Abb. 71 Autoantikörper gegen Ri.....	149
Abb. 72 Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine.	150
Abb. 73 Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine.	150
Abb. 74 Autoantikörper gegen Scl-70.	153
Abb. 75 Autoantikörper gegen Scl-70.	153
Abb. 76 Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge.	156
Abb. 77 Autoantikörper gegen Spindelapparat.....	157
Abb. 78 Autoantikörper gegen SS-A.	160
Abb. 79 Autoantikörper gegen SS-A.	160
Abb. 80 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.....	163
Abb. 81 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.....	163
Abb. 82 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.....	164
Abb. 83 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.....	164
Abb. 84 Autoantikörper gegen Thrombocyten.....	165
Abb. 85 Autoantikörper gegen Thyreoglobulin.	167
Abb. 86 Autoantikörper gegen Schilddrüsen-spezifische Peroxidase.....	170
Abb. 87 Autoantikörper gegen U1-RNP.	175
Abb. 88 Autoantikörper gegen U1-RNP.	175
Abb. 89 Autoantikörper gegen Yo.....	179
Abb. 90 Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA; Muster homogen).....	180
Abb. 91 Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA; Muster homogen).....	180
Abb. 92 Autoantikörper gegen Zentriolen/Zentrosomen.....	185
Abb. 93 Autoantikörper gegen Zentromere.....	187
Abb. 94 Autoantikörper gegen Zentromere.....	187
Abb. 95 Autoantikörper gegen Nuclear Dots.....	207
Abb. 96 Autoantikörper gegen Nuclear Dots.....	207

ANNA-3

Synonym(e)

Autoantikörper gegen neuronale Zellkerne Typ 3

Englischer Begriff

ANNA-3 autoantibodies, anti-neuronal nuclear antibodies type 3

Definition

Autoantikörper gegen ein 170-kDa-Protein in den Zellkernen der Purkinje-Zellen des Kleinhirns (das auch in den Podocyten der Nierenglomeruli exprimiert wird).

Funktion und Pathophysiologie

ANNA-3-Proteine werden sowohl in peripheren und zentralen Neuronen exprimiert, als auch, bei Antikörperpositiven Patienten, in Tumorgewebe.

Analytik

Der Nachweis von ANNA-3 ist mit dem indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gefrierschnitten von Primatenkleinhirn möglich. ANNA-3 zeigen eine Fluoreszenz der Purkinjezell-Nuclei sowie der Podocyten der Nierenglomeruli.

Im Westernblot mit aufgetrenntem Kleinhirnextrakt kommt es zu einer Reaktion bei 170 kDa.

ANNA-3 werden wegen der differentialdiagnostischen Verwandtschaft der assoziierten Enzephalitis zu anderen paraneoplastischen neurologischen Syndromen parallel zu den übrigen Autoantikörpern gegen onkoneuronale Antigene untersucht.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

ANNA-3 werden bei zerebellarer Ataxie, Myelopathie und Limbischer/Hirnstamm-Enzephalitis gefunden, sie sind mit kleinzelligen Bronchiakarzinomen und Adenokarzinomen assoziiert und können den ersten Hinweis auf den zugrundeliegenden Tumor geben.

Literatur

Chan KH, Vernino S, Lennon VA (2001) ANNA-3 anti-neuronal antibody: marker of lung cancer-related autoimmunity. *Ann Neurol* 50(3):301-311

Antikörper gegen Gliadin (Z-AGFA)

Synonym(e)

Gliadin-Antikörper, Z-AGFA (Zöliakie-assoziierte Anti-Gliadin-Fragmente-Antikörper)

Englischer Begriff

Antibodies to gliadin

Definition

Antikörper gegen Gliadin sind eng mit der Gluten-sensitiven Enteropathie und der Dermatitis herpetiformis Dühring (DHD) assoziiert. Sie werden in der Regel parallel zu den Autoantikörpern gegen Gewebstransglutaminase untersucht.

Gliadin ist Bestandteil des Kleberproteins (Gluten) mehrerer Getreidesorten (Weizen, Roggen, Gerste). Die Bezeichnung Gliadin umfasst 50 verschiedene Proteine, von denen für die Auslösung einer Gluten-sensitiven Enteropathie das α -Gliadin die entscheidende Bedeutung hat.

Funktion und Pathophysiologie

Bei Patienten mit einer Gluten-sensitiven Enteropathie (Kleinkinder: Zöliakie, Erwachsene: Einheimische Sprue) wird durch Verzehr glutenhaltiger Getreideprodukte eine Schädigung der Dünndarmschleimhaut hervorgerufen. Es kommt zu einer Zottenatrophie und zu funktionellen Störungen. Das klinische Bild ist geprägt von Diarrhoe und den Folgen der Malabsorption – Gewichtsverlust, Avitaminose, bei Kindern Wachstumsretardierung. Bei einigen Patienten mit Gluten-sensitiver Enteropathie besteht zusätzlich eine DHD: Eine chronische, mit Blasenbildung einhergehende Hauterkrankung.

Die (nicht-invasive!) Untersuchung der Antikörper gegen Gliadin und Endomysium (Gewebstransglutaminase) liefert einen wichtigen Beitrag zur Diagnostik der Gluten-sensitiven Enteropathie und der DHD. Es besteht eine enge funktionelle Beziehung beider Zielantigene: Bei der Verdauung freigesetzte Gliadinpeptide sind die Substrate der Gewebstransglutaminase.

Analytik

Antikörper gegen Gliadin lassen sich durch indirekte Immunfluoreszenz (Einstiegsverdünnung ist 1:10, Substrat: Auf Objektträger gespottetes Antigen oder Ausstriche Antigen-beschichteter Erythrocyten, nach Stern und Grüttner) oder durch ELISA untersuchen. Allerdings ist die Bestimmung der IgG-Antikörper gegen Voll-Gliadin mit herkömmlichen Tests für die Diagnose Zöliakie nutzlos, da ein Viertel der Normalbevölkerung im IgG positiv reagiert. Man konnte sich also bisher nur auf das IgA verlassen, und Patienten mit selektivem IgA-Mangel fielen durch das Raster – eine Disposition, die überdurchschnittlich häufig mit der Zöliakie assoziiert ist.

Für die Bestimmung der Antikörper gegen Gliadin werden daher heute „Designer-Antigene“, eingesetzt, beispielsweise ein rekombinantes „Gliadin-analoges Fusionspeptid“, das nahezu ausschließlich bei Patienten mit Zöliakie und DHD eine positive Reaktion zeigt, nicht aber bei Gesunden oder Patienten mit anderen gastrointestinalen Erkrankungen.

Das Fusionspeptid besteht aus zwei Komponenten: Einem künstlichen Gliadinfragment-analogen Nonapeptid, das im Hinblick auf die Reaktivität mit Zöliakie-Seren empirisch aus tausenden artifizieller Varianten ausgesucht wurde, und einem durch Transglutaminase desamidierten (Glutamin zu Glutaminsäure) Nonapeptid-Abschnitt des Gliadinverdaus, der wahrscheinlich für die Zöliakie pathophysiologische Relevanz besitzt und nicht mehr als 2 % der Gesamtgröße des Gliadins ausmacht. Die restlichen 98 % des Gliadinmoleküls werden im ELISA nicht verwendet - immunologischer Ballast, der überwiegend nur ein Ziel für unspezifische Reaktionen abgibt. Dadurch erreicht man einen enormen Zuwachs an Spezifität. Das Konstrukt wird zudem zur Steigerung der Sensitivität in trimerer Form exprimiert.

Indikation

Bis 1990 stützte sich die definitive Diagnose der Zöliakie entsprechend den Kriterien der „European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition“ auf drei zu unterschiedlichen Zeitpunkten vorgenommene Dünndarmbiopsien: Vor und während einer diätetischen Therapie, eine dritte nach explorativer Exposition. Wenn sich Gastroenterologen kooperativ zeigten, könnte man den Patienten heute durch den Nachweis eines diätabhängigen Absinkens bzw. Ansteigens der Antikörpertiter gegen Gliadin und Endomysium eine (erste), zweite oder dritte Dünndarmspiegelung ersparen.

Während Antikörper der Klasse IgA gegen Gliadin und Transglutaminase bei Gesunden und Patienten mit anderen Darmkrankheiten praktisch nicht vorkommen, beträgt ihre Prävalenz sowohl bei der nicht behandelten Gluten-sensitiven Enteropathie, wie auch bei der DHD zusammengenommen nahezu 100 %. Meist treten beide Antikörper gleichzeitig auf, doch sind sie nicht identisch und auch nicht vollständig miteinander korreliert.

Abgesehen von der Rolle der Antikörper gegen Gliadin bei der Primärdiagnose einer Gluten-sensitiven Enteropathie eignet sich ihr Nachweis zur Verlaufskontrolle und zur Überwachung einer Gluten-freien Diät oder eines Gluten-Belastungstests.

Der Nachweis von Antikörpern gegen Gliadin und gegen Gewebstransglutaminase sichert die klinische Diagnose ab, wird aber auch bei Verwandten von Zöliakie-Patienten durchgeführt, um eine Disposition für die Gluten-sensitiven Enteropathie aufzudecken. Zeigen sich bei Verdacht auf eine Gluten-sensitiven Enteropathie keine IgA-Antikörper gegen Gliadin oder Endomysium im Serum, sollte an die Möglichkeit eines IgA-Mangels gedacht und das Gesamt-IgA bestimmt werden. In diesem Fall treten Antikörper der Klasse IgG in den Vordergrund. Solche Patienten sind vor Transfusionen zu warnen. Selektiver IgA-Mangel tritt überdurchschnittlich häufig bei Gluten-sensitiven Enteropathie auf.

Interpretation

Im Verlauf einer Therapie mit Gluten-freier Diät fallen die Antikörper gegen Gliadin innerhalb weniger Monate auf niedrige Werte ab. Permanent hohe Gliadin-Antikörperspiegel sprechen dafür, dass eine Gluten-freie Diät nicht eingehalten wird. Unter Gluten-Belastung kommt es im Falle eines Rezidivs innerhalb weniger Tage zu einem Anstieg der Antikörper gegen Gliadin.

Auch bei gesunden Säuglingen und Kleinkindern lassen sich nach der Einführung von Gluten in die Nahrung Antikörper gegen Gliadin nachweisen. In solchen Fällen ist ein positiver Befund bei bestehender Symptomatik nach drei Monaten zu kontrollieren.

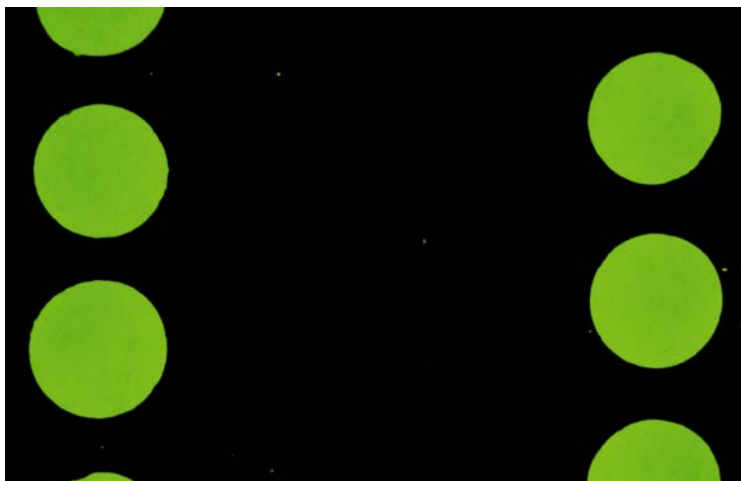


Abb. 1 Antikörper gegen Gliadin.

Diagnostische Wertigkeit

In einem Zöliakie-Kollektiv von Prause et al. ergab sich mit einem auf rekombinant hergestelltem Designer-Gliadin basierenden ELISA-Test zur Bestimmung der Z-AGFA eine Sensitivität von 83 % (IgA) bzw. 95 % (IgG), jeweils bei 95 % Spezifität (herkömmlicher Anti-Gliadin-ELISA: 54 % für IgA und 31 % für IgG). In einer Gruppe von Patienten mit DHD erzielte der Test eine Sensitivität von 83 % (IgA) bzw. 78 % (IgG) und war damit um 28 % empfindlicher als ein herkömmlicher Anti-Gliadin-ELISA (Sensitivität IgA: 55 %, IgG: 50 %).

Während der akuten Krankheitsphase der Gluten-sensitiven Enteropathie sind meist Gliadin-Antikörper der Klassen IgA und IgG nachweisbar. Von ihnen besitzen die Antikörper der Klasse IgA eine deutlich höhere Krankheitsspezifität. Antikörper der Klasse IgM gegen Gliadin spielen diagnostisch keine Rolle.

Literatur

1. Rose C, Dährich C, Probst C, Komorowski L, Stöcker W, Schlumberger W, Zillikens D (2008) Anti-GAF(3X)-ELISA (IgG) in combination with Anti-tTG-ELISA (IgA) identifies 100 % of celiac disease patients with dermatitis herpetiformis Dühring and positive intestinal biopsy (Marsh III). 6th International Congress on Autoimmunity in Porto, Portugal
2. Prause C, Ritter M, Probst C, Dährich C, Schlumberger W, Komorowski L, Lieske R, Richter T, Hauer AC, Stern M, Uhlig H, Laas M, Zimmer KP, Mothes T (2009) Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 49:52-58

Antikörper gegen Interferon-β

Synonym(e)

IFN-β-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to interferon-β

Definition

IFN-β ist ein Glykoprotein aus 166 Aminosäuren, das Zellen zur Infektionsabwehr bildet.

Analytik

Autoantikörper gegen Interferon-β werden mit ELISA- und Immunblot-Techniken nachgewiesen.

Indikation

In einigen Fällen lassen sich IFN-β-Antikörper bei systemischem Lupus erythematodes (SLE) nachweisen. Weitere Autoimmunkrankheiten mit spontan auftretenden IFN-β-Autoantikörpern sind nicht bekannt.

Im Laufe einer fortgesetzten Behandlung mit Interferon bei Patienten mit Melanom, Autoimmunhepatitis, Multipler Sklerose und anderen Erkrankungen können sich Antikörper gegen Interferon entwickeln, die den Therapieerfolg abschwächen. Einer schwedischen Studie zufolge finden sich neutralisierende Antikörper gegen IFN-β bei 5 % der MS-Patienten, die mit IFN-β-1a behandelt werden. Im Vergleich dazu ruft die Behandlung mit IFN-β-1b bei 44 % aller Patienten entsprechende Antikörper hervor.

Literatur

Kivisakk P, Alm GV, Fredrikson S, Link H (2000) Neutralizing and binding anti-interferon-beta (IFN-beta) antibodies. A comparison between IFN-beta-1a and IFN-beta-1b treatment in multiple sclerosis. Eur J Neurol 7(1):27-34

Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae*

Synonym(e)

Anti-*Saccharomyces-cerevisiae*-Antikörper, ASCA, Anti-Mannan-Antikörper

Englischer Begriff

Anti-*Saccharomyces cerevisiae* autoantibodies

Definition

Back- oder Bierhefe, wird auch zur Herstellung von Wein, Essig und Ethanol eingesetzt.

Funktion und Pathophysiologie

Bei Patienten mit Morbus Crohn werden häufiger als bei gesunden Personen Antikörper gegen Mikroorganismen der Darmflora gefunden. Main et al. haben 1988 beobachtet, dass im Serum von Patienten mit M. Crohn oft Antikörper gegen *S. cerevisiae* auftreten. Sie sind für die Differentialdiagnose von M. Crohn und Colitis ulcerosa geeignet, aber für die Entstehung der Erkrankung wohl ohne Bedeutung: Es wird angenommen, dass die bei M. Crohn pathogenetisch maßgebliche Autoimmunität gegen einen Sekretbestandteil des Pankreas (siehe Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret) für Auslösung und Unterhaltung der Darmentzündung verantwortlich ist und eine Adjuvanswirkung entfaltet, sodass sich die Patienten verstärkt gegen Keime der Darmflora immunisieren. Es finden sich auch vermehrt Antikörper gegen Pectin, Agar Agar und andere Polysaccharide, und es wurden auch wegen entsprechend hoher Antikörper-Prävalenzen Mycobakterien und andere Erreger mit der Pathogenese des M. Crohn in Zusammenhang gebracht.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

ASCA können sowohl durch indirekte Immunfluoreszenz an *S.-cerevisiae*-Ausstrichen (Bäcker- oder Bierhefe), als auch im ELISA (an der festen Phase: aus *S. cerevisiae* isoliertes Mannan) diagnostiziert werden.

Ausgangsverdünnung für die Immunfluoreszenz ist 1:100 für IgA und 1:1.000 für IgG. Man beurteilt die Fluoreszenz der Hefezellen und vergleicht mit positiven und negativen Kontrollen.

Bei positiven Seren bestehen ASCA in 31 % nur aus IgA, in 14 % nur aus IgG und in 55 % aus beiden Immunglobulinklassen. IgM-Antikörper haben bei Autoimmunerkrankungen in der Gastroenterologie keinen diagnostischen Wert.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Differentialdiagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (M. Crohn, Colitis ulcerosa)

Interpretation

Antikörper gegen *S. cerevisiae* haben bei M. Crohn eine Prävalenz von 67 %, wenn man die Immunglobulinklassen IgA und IgG zusammenrechnet. Bestimmt man zusätzlich die Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret (Prävalenz 39 %), kann man 80 % der Patienten mit M. Crohn rein serologisch identifizieren, da beide Antikörper nicht unmittelbar miteinander korreliert sind.

Antikörper gegen *S. cerevisiae* kommen darüber hinaus auch bei 25 % der Fälle mit Zöliakie vor.

Diagnostische Wertigkeit

Antikörper gegen *S. cerevisiae* bereichern die serologische Diagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen um einen weiteren spezifischen Parameter, neben Autoantikörpern gegen exokrines Pankreas (spezifisch für M. Crohn), gegen intestinale Becherzellen (pathognomonisch für Colitis ulcerosa) sowie gegen Granulozyten (pANCA).

Literatur

1. Main J, McKenzie H, Yeaman GR, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parratt D. (1988) Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease BMJ 297(6656):1105-1106

2. Teegen B, Müller-Kunert E, Zerbe B, Dährich C, Groeury M, Humbel RL, Schlumberger W, Stöcker W (2000) Prevalence of antibodies against *Saccharomyces cerevisiae* in the diagnosis of chronic-inflammatory bowel disease. *J Lab Med* 24:494
3. Damoiseaux JG, Bouten B, Linders AM, Austen J, Roozendaal C, Russel MG, Forget PP, Tervaert JW (2002) Diagnostic value of anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies for inflammatory bowel disease: High prevalence in patients with celiac disease *J Clin Immunol* 22(5):281-288

Antikörper gegen Spermatozoen

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Spermatozoen (beim Mann)
Alloantikörper gegen Spermatozoen (bei der Frau)

Englischer Begriff

Sperm antibodies

Definition

Spermien inhibierende Auto- (beim Mann) bzw. Alloantikörper (bei der Frau)

Funktion und Pathophysiologie

Antikörper gegen Spermatozoen können bei Infertilität immunologischer Genese festgestellt werden. Bei etwa 10 % unfruchtbarer Männer treten Autoantikörper gegen Spermatozoen auf. Erstmals können diese Antikörper bei Jungen in der Pubertät mit z. B. urogenitalen Erkrankungen in Erscheinung treten. Die höchste Prävalenz ist für Personen im Reproduktionsalter zu verzeichnen, mit weiter zunehmendem Alter sinkt die Nachweisrate dieser Autoantikörper. Sie kommen auch nach Vasektomie häufig vor.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma (bei Mann oder Frau), Sperma, Zervixschleim

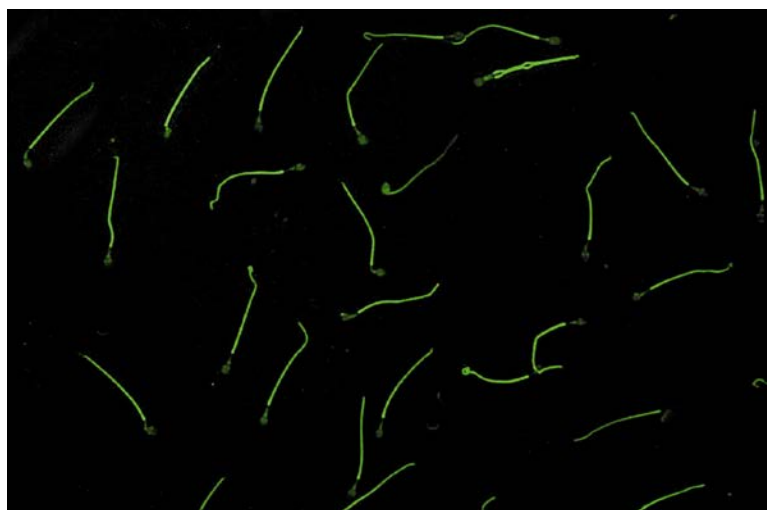
Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

ELISA, IIFT, Mixed-Antiglobulin-Reaction-Test (MAR-Test; dabei wird die Beladung der Spermien mit IgG bzw. IgA über die Agglutination mit IgA- bzw. IgG-beschichteten Indikatorpartikeln bestimmt)

Serum-Antikörper gehören hauptsächlich der Klasse IgG (vermehrt IgG1 und IgG3) an, während im Sperma lokal produzierte Oberflächen-Antikörper der Klasse IgA (IgA2) überwiegen.



**Abb. 2 Antikörper gegen Spermatozoen.
Substrat humane Spermatozoen.**

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Verdacht auf immunologisch bedingte Infertilität. Unerfüllter Kinderwunsch ist die häufigste Indikation zur Bestimmung der Antikörper gegen Spermatozoen bei Männern oder Frauen.

Interpretation

Immunfluoreszenz (positive Reaktion): Antikörper gegen Spermatozoen-Antigene können sich an verschiedene Strukturen der Spermatozoen binden. In der Regel wird die Fluoreszenz der Geißel beurteilt. Reaktionen an Kopf- oder Mittelteil werden ebenfalls beobachtet.

Von manchen Untersuchern wird die Fluoreszenz der unterschiedlichen Spermatozoen-Strukturen mit verschiedenen klinischen Gegebenheiten in Verbindung gebracht.

Verschiedene ELISA-Verfahren setzen an Festphasen immobilisierte Spermatozoen ein. Die Auswertung erfolgt gewöhnlich in Relation zu Referenzseren.

Die diagnostische Aussagefähigkeit eines Befundes „Antikörper gegen Spermatozoen positiv“ ist sehr eingeschränkt und sollte nicht überbewertet werden.

Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibody

Definition

Autoantikörper sind Immunglobuline, die gegen Antigene des eigenen Organismus (Autoantigene) gerichtet sind. Je nach Lokalisation ihrer Zielantigene werden sie in „Autoantikörper mit Organspezifität“ und „Autoantikörper ohne Organspezifität“ unterteilt, beide können mit „systemischen“ oder „organspezifischen“ Autoimmunerkrankungen assoziiert sein.

Autoantikörper ohne Organspezifität: Hierzu gehören Autoantikörper, deren Zielantigene in nahezu allen Zellen des Körpers vorkommen, wie beispielsweise antinukleäre Antikörper (ANA, z. B. Autoantikörper gegen DNS, Sm, Zentromere) oder Autoantikörper gegen Bestandteile des Cytoplasma (z. B. gegen Mitochondrien, Actin, Gewebs-transglutaminase). Das Vorliegen dieser Autoantikörper kann zu systemischen Autoimmunreaktionen ohne Organspezifität führen. Es handelt sich dabei vorwiegend um Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises (Kollagenosen), z. B. progressive Systemsklerose oder systemischer Lupus erythematodes. Manche nicht-organspezifischen Autoantikörper stellen jedoch auch Marker für organspezifische Autoimmunreaktionen dar, wie z. B. ANA für die Autoimmunhepatitis, Autoantikörper gegen Mitochondrien für die primär-biliäre Lebercirrhose und Antikörper gegen Gewebs-transglutaminase für die Gluten-sensitive Enteropathie.

Organspezifische Autoantikörper: Zu dieser Gruppe gehören Autoantikörper, deren Zielantigene nur in bestimmten Organen lokalisiert sind. Ein Auftreten dieser Autoantikörper hat häufig eine lokale Immunreaktion unter besonderer Einbeziehung des betroffenen Organs zur Folge, wie z. B. Autoantikörper gegen die Schilddrüsenspezifische Peroxidase (SD-Mikrosomen) bei Autoimmunthyreoiditis (M. Basedow, Hashimoto-Thyreoiditis). Ein Beleg dafür, dass organspezifische Autoantikörper auch bei systemischen Autoimmunerkrankungen vorkommen können, ist die Autoimmun-Polyendokrinopathie, bei der Autoantikörper gegen verschiedene endokrine Organe, aber auch gegen quergestreifte Muskeln und Belegzellen des Magens einzeln oder mit anderen Antikörpern zusammen mit endokrinologischen Erkrankungen, Myasthenia gravis und Pernizöser Anämie assoziiert sind.

Physiologische Autoantikörper: Autoantikörper treten auch beim Gesunden auf, jedoch nur in geringen Konzentrationen. Sie verfügen über eine niedrige Antigenaffinität und gehören hauptsächlich der Immunglobulinklasse IgM an. Es ist noch unklar, ob sie eine Rolle bei der Elimination von Zellabbauprodukten spielen.

Pathologische Autoantikörper: Sie sind vor allem bei Personen mit Autoimmunerkrankungen in höheren Konzentrationen im Blut nachweisbar, haben eine hohe Antigenaffinität und sind den Immunglobulinklassen IgG oder (seltener) IgA zuzurechnen. Diese Autoantikörper können durch verschiedene Mechanismen zu einer Störung physiologischer Vorgänge im Körper führen.

Pathophysiologie

Die Rolle, die Autoantikörper in der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen spielen, ist sehr unterschiedlich: In einigen Fällen können sie ätiologisch direkt mit der Erkrankung in Zusammenhang gebracht werden, es gibt eine große Bandbreite von Pathomechanismen. Bei vielen Autoantikörpern ist noch unklar, ob bzw. wie sie zur Entstehung der entsprechenden Krankheit beitragen. Autoantikörper stellen oft spezifische Marker für die assoziierten Autoimmunerkrankungen dar, ihr Nachweis im Serum lässt sich diagnostisch nutzen.

Pathomechanismen von Autoantikörpern

Aktivierung/Blockierung von Rezeptoren: Die Autoantikörper binden sich an einen Rezeptor und können diesen entweder aktivieren (z. B. TSH-Rezeptor bei Morbus Basedow) oder blockieren (z. B. Acetylcholin-Rezeptor bei Myasthenia gravis).

Zerstörung von Zellen/Gewebe: Autoantikörper binden sich an Zellen oder Gewebestandteile und bewirken deren Zerstörung durch Komplementaktivierung oder Antikörper-vermittelte zelluläre Cytotoxizität (ADCC; antibody dependent cellular cytotoxicity), wie z. B. Autoantikörper gegen Erythrocyten bei autoimmuner hämolytischer Anämie.

Neutralisierung löslicher Substanzen: Autoantikörper binden sich an lösliche Substanzen und inhibieren deren Wirkung, z. B. von Intrinsic-Faktor, wodurch die Resorption des Vitamins B12 blockiert wird (Perniziöse Anämie).

Immunkomplexbildung und Entzündungsreaktionen: Reagieren die Autoantikörper mit löslichen Antigenen, kommt es zur Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen (Immunkomplexen), die sich im Gewebe ablagern kön-

nen. Normalerweise werden diese Immunkomplexe durch Makrophagen entfernt. Da im Körper von Patienten mit Autoimmunerkrankungen aber meistens Autoantigene und Autoantikörper in sehr großen Mengen vorliegen, bilden sich immer wieder neue Komplexe, die nicht alle beseitigt werden können. Durch Kontakt von natürlichen Killer-Zellen, Makrophagen oder Bestandteilen des Komplementsystems mit diesen Immunkomplexen kann es zur Freisetzung entzündungsfördernder Mediatoren kommen, wie z. B. Cytokine, Prostaglandine oder Leukotriene. Durch chemotaktisch wirkende Substanzen (z. B. den Komplementbestandteil C5a oder Leukotrien B4) werden weitere inflammatorische Zellen zum Ort des Geschehens herangeführt, die Entzündung intensiviert sich und kann eine ausgedehnte Gewebeerstörung zur Folge haben. Ein Beispiel für solch eine Reaktion ist die beim systemischen Lupus erythematodes beobachtete Gewebeschädigung durch abgelagerte Immunkomplexe aus Autoantikörpern und Doppelstrang-DNS oder die bei Pemphigus vulgaris bzw. bullösem Pemphigoid auftretende Blasenbildung als Konsequenz der Autoantikörper gegen Desmosomen bzw. epidermale Basalmembran.

Diaplazentare Autoantikörper-Übertragung auf Ungeborene: Autoantikörper können Komplikationen in der Schwangerschaft hervorrufen, wenn sie von der Mutter über die Plazenta auf das Kind übertragen werden. Das kann zu einer Erkrankung des Fetus führen, die beim Neugeborenen so lange anhält, bis die mütterlichen Autoantikörper abgebaut sind. Dieses Phänomen tritt beispielsweise auf, wenn die Mutter an M. Basedow, Myasthenia gravis oder systemischem Lupus erythematodes erkrankt ist. Die Auswirkungen letzterer Erkrankung werden beim Neugeborenen als neonatales Lupus-Syndrom bezeichnet; es kann beim Neugeborenen einen kongenitalen Herzblock herbeiführen. In gleicher Weise wirken sich nach neuesten Erkenntnissen Antikörper gegen Ro/SS-A aus dem Blut von Schwangeren mit systemischem Lupus erythematodes aus, die bei Feten und Neugeborenen eine Bradycardie bis zum kongenitalen Herzblock verursachen (diese Antikörper reagieren mit Proteinen der Calciumkanäle des Reizleitungsgewebes und verzögern dadurch die Erregungsleitung).

Autoantikörper mit unklarer Beteiligung an der Pathogenese

In einigen Fällen ist der Zusammenhang zwischen den auftretenden Autoantikörpern und der Ursache der Erkrankungen unklar. Die Assoziation der Antikörper mit einer bestimmten Autoimmunerkrankung beruht eher auf statistischen und epidemiologischen Beobachtungen als auf einer Ursachen-Wirkung-Beziehung. Sie stellen jedoch einen spezifischen, sensiblen und frühzeitig nachweisbaren Marker für die jeweilige Krankheit dar, wie z. B. Autoantikörper gegen Proteinase 3 bei der Wegener'schen Granulomatose.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Analytik

Autoantikörper können mit Hilfe folgender serologischer Nachweisverfahren untersucht werden:

- Indirekter Immunfluoreszenztest (IIFT)
- Enzymimmunoassay (EIA), z. B. ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), Immunblot (Linienblot, Punktblot, Westernblot)
- Radioimmunoassay (RIA)
- Flüssigphasen-Tests (Nephelometrie, Turbidimetrie, Agglutinationstests)

Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen

Synonym(e)

Autoantikörper bei Blasen-bildenden Autoimmundermatosen. Siehe auch Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran und Autoantikörper gegen Desmosomen.

Englischer Begriff

Autoimmune blistering diseases-associated autoantibodies

Funktion und Pathophysiologie

Die bullösen Autoimmundermatosen werden in drei Hauptgruppen unterteilt, dabei orientiert man sich an den Etagen der Cutis, in denen sich die Blasen manifestieren – entsprechend der histologischen Verteilung der Zielantigene, gegen die sich die assoziierten Autoantikörper richten. Darüber hinaus gehört als vierte Gruppe der Paraneoplastische Pemphigus zur Differentialdiagnostik:

1. Pemphigus-Erkrankungen – Blasenbildung durch Akantholyse, intraepidermal

Ziel der Autoimmunität sind hier vor allem die Calcium-abhängigen Adhäsionsmoleküle (Cadherine) Desmoglein 1 und 3 (Dsg1 und Dsg3) der Stachelzell-Desmosomen – sie verbinden die Keratinocyten untereinander. Dsg1 ist an der Oberfläche sowohl der Epidermis wie auch der Mucosa stärker exprimiert als im Bereich des Stratum basale. Bei Dsg3 ist es umgekehrt, darüber hinaus dominiert Dsg3 in der ganzen Breite des Mucosaepithels, bei der Epidermis befindet sich Dsg3 dagegen nur in der Nähe der Basalzellen.

Pemphigus foliaceus ist mit Autoantikörpern gegen Dsg1 assoziiert, folglich sind nur oberflächliche Epidermisschichten befallen, die Schleimhäute bleiben unversehrt, da die Mucosa genügend (von der Autoimmunreaktion nicht betroffenes) Dsg3 besitzt. Der Spalt bildet sich im Stratum granulosum, es entstehen dünne, schlaffe Blasen. Die Inzidenz wird auf 0,1 Fälle pro 100.000 Personen im Jahr geschätzt. Beim **Pemphigus vulgaris** dominiert die Immunität gegen Dsg3. Die Krankheit manifestiert sich in zwei Varianten: Liegen ausschließlich Autoantikörper gegen Dsg3 vor, dann sind in erster Linie die Schleimhäute betroffen, in der Epidermis finden die Zellen durch das nicht beeinträchtigte Dsg1 noch ausreichend Halt. Entwickelt der Patient aber zusätzlich auch Autoantikörper gegen Dsg1, dann wird neben der Mucosa auch die Epidermis erfasst. Im Vergleich zu Pemphigus foliaceus spielt sich die Akantholyse in den tieferen Epidermisschichten ab, die Blasen sind geringfügig fester. Die Inzidenz des Pemphigus vulgaris liegt bei 0,7 bis 1,6 Fällen pro 100.000 Personen im Jahr. Der **IgA-Pemphigus** weist Autoantikörper der Immunglobulinklasse IgA auf – Zielantigene Dsg1 oder Dsg3 und Desmocollin 1.

2. Pemphigoid-Erkrankungen – Blasenbildung subepidermal, in Höhe der Basalmembran

Die Autoantikörper richten sich gegen die Hemidesmosomen, ein komplexes Netzwerk aus Strukturproteinen, die das Stratum basale mit der Basalmembran verbinden. Infolge der Autoimmunreaktionen verlieren die basalen Keratinocyten ihren Kontakt zur Basalmembran und die gesamte Epidermis hebt sich ab – die Blasen sind daher (im Gegensatz zu Pemphigus vulgaris oder foliaceus) prall gefüllt und straff. Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind

Bullöses Pemphigoid - Zielantigene: BP180 (in erster Linie das Epitop NC16A, in einigen Fällen auch die lösliche Ektodomäne LAD-1) und BP230. Die Inzidenz liegt bei 1,3 bis 4,3 Erkrankungen pro 100.000 Personen und Jahr. Die Krankheit kommt häufiger vor als allgemein vermutet, daher sollten bei jedem älteren Patienten mit länger bestehenden juckenden Hautveränderungen Antikörper gegen NC16A untersucht werden.

Pemphigoid gestationis (frühere Bezeichnung: Herpes gestationis) - Zielantigene: ebenfalls BP180 (Epitop NC16A) und BP230. Die Angaben zur Inzidenz schwanken: Ein Fall kommt auf 3.000 bis 10.000 Schwangerschaften.

Vernarbendes Schleimhautpemphigoid – Zielantigene 70 % BP180 (vorwiegend lösliche Ektodomäne LAD-1), 30 % Laminin 332 (nur von diesen weist ein Viertel der Patienten ein solides Malignom auf: Lunge, Colon, Mamma, Cervix; Nachweis: Immunblot auf der Basis eines Extrakts der extrazellulären Matrix kultivierter Keratinocyten oder eines rekombinanten Antigens). Großes Potential dieses Parameters auch in der Ophthalmologie! Gleiche Symptomatik bei Patienten mit genetisch verändertem Laminin 332.

Anti-p200-Pemphigoid – Zielantigen: Laminin- γ -1 (Antikörper-Nachweis durch Immunblot).

Lineare IgA-Dermatose – Zielantigene: LAD-1 und BP230.

Lichen planus pemphigoides – Zielantigene: BP180 und BP230.

Epidermolysis bullosa acquisita – Zielantigen: Kollagen VII (Ankerfibrillen).

3. Dermatitis herpetiformis Duhring (DHD) – Blasenbildung dermal

Wegweisend sind hier Antikörper gegen Gliadin (genauer: Zöliakie-assoziierte Antikörper gegen desamidierte Gliadinfragmente) und Autoantikörper gegen epidermale Transglutaminase bzw. Gewebs-Transglutaminase (überholte Bezeichnung: Endomysium).

DHD nimmt eine Sonderstellung unter den bullösen Autoimmundermatosen ein, da die Blasenbildung in tieferen Hautschichten stattfindet. DHD ist die kutane Manifestation der Zöliakie (Sprue, Gluten-Unverträglichkeit), bei jedem Patienten mit DHD kann eine Sprue nachgewiesen werden (aber man findet nicht bei jeder Sprue eine DHD). Eine lebenslange glutenfreie Diät ist der Grundpfeiler einer Therapie dieser Erkrankung.

4. Beim paraneoplastischen Pemphigus liegt neben der schweren Hauterkrankung ein okkult oder manifester Tumor vor, meistens eine hämatologische Neoplasie (Non-Hodgkin-Lymphom, Lymphatische Leukämie, Castleman-Tumor), er kann assoziiert sein mit Autoantikörpern gegen verschiedene desmosomale und hemidesmosomale Proteine: Dsg1, Dsg3, Desmoplakin 1 und 2, BP230, Envoplakin, Periplakin, Plectin und ein unbekanntes Antigen mit 170 kD.

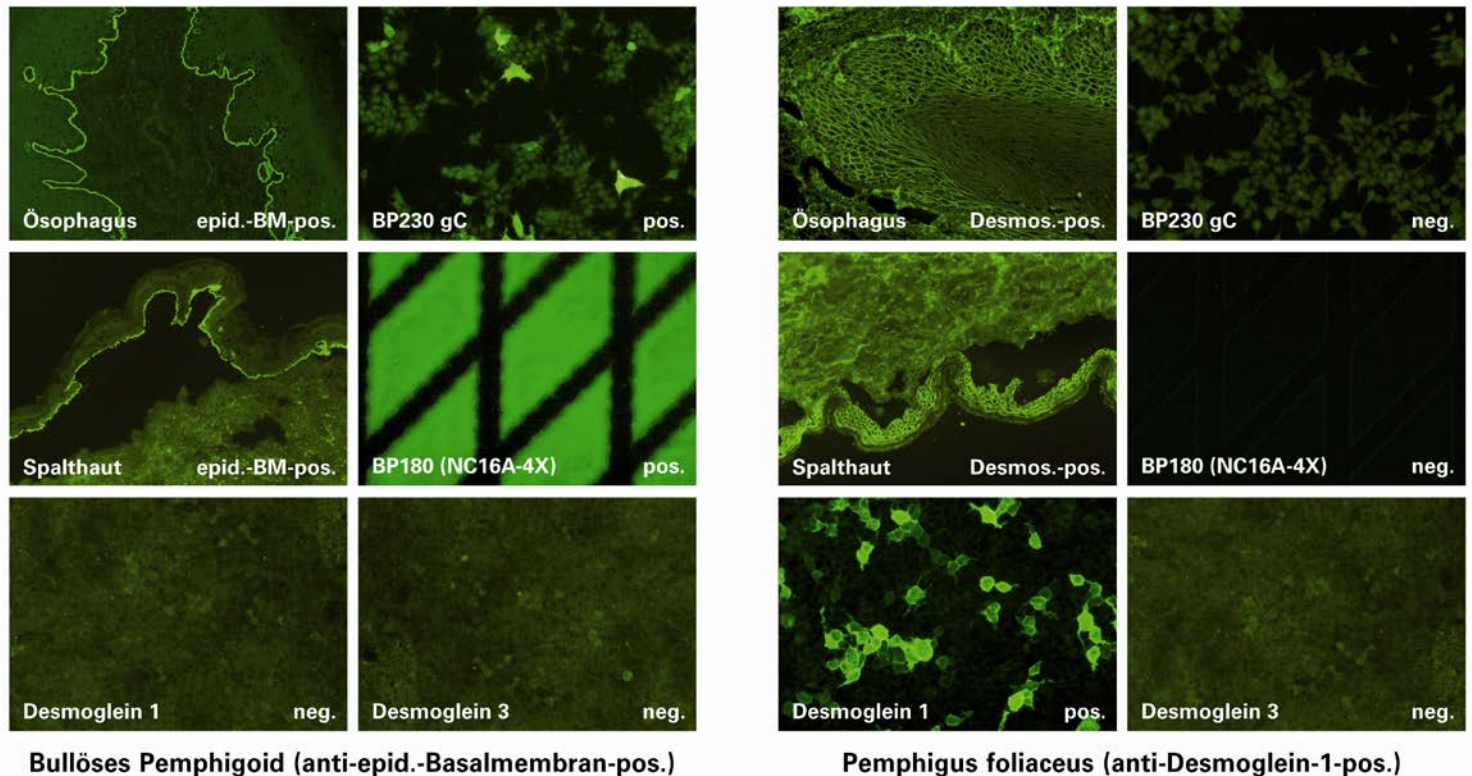


Abb. 3 Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Nachweis in-vivo-gebundener Autoantikörper durch direkte Immunfluoreszenz an befallener Haut oder Mucosa. Bestimmung der Serumantikörper durch indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung von Epidermis, Mundschleimhaut, Zunge oder Ösophagus, für die paraneoplastischen Antikörper auch Harnblase (das Urothel exprimiert zusätzlich zu Dsg1 und Dsg3 auch Desmoplakine). Primatengewebe ist grundsätzlich besser geeignet als Gewebe von Nagetieren (höhere Empfindlichkeit und Spezifität).

Die gegen die epidermale Basalmembran gerichteten Autoantikörper können durch den Einsatz von Spalthaut in der indirekten Immunfluoreszenz teilweise differenziert werden: Mit dem Blasendach reagieren Autoantikörper gegen BP180 und BP230, mit dem Blasenboden Autoantikörper gegen LAD-1 (vorwiegend), Laminin 332, Laminin-γ 1, p200 und Kollagen VII.

Zunehmend setzen sich auch in der Immunfluoreszenz rekombinante Substrate mit transfizierten humanen Zellen durch, die authentische Autoantigene exprimieren: Die Immunfluoreszenzreaktionen lassen sich leichter interpretieren und Störeinflüsse durch überlagernde Antikörper werden minimiert, des Weiteren können die verschiedenen Autoantikörper unmittelbar identifiziert werden.

Man setzt parallel drei Verdünnungen an, 1:10, 1:100 und 1:1.000, um sowohl niedrig-titrige Antikörper zu erfassen, als auch solche, die sich erst ab einer höheren Verdünnung zeigen. Das spielt besonders bei den Autoantikörpern gegen epidermale Basalmembran eine Rolle.

Normalerweise werden Autoantikörper gegen Desmosomen und gegen epidermale Basalmembran parallel untersucht, mit den gleichen Substraten (es kommt häufig vor, dass mit der Analyse nur einer der beiden Parameter beauftragt wird, aber das Ergebnis für den anderen, nicht angeforderten Parameter positiv ausfällt).

Neben der indirekten Immunfluoreszenz stehen heute ebenfalls entsprechende ELISA und Immunblot-Techniken unter Verwendung nativer oder rekombinanter Antigene für die Festphase zur Verfügung.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Einordnung bullöser Dermatosen, insbesondere Abgrenzung autoimmuner von hereditären Formen. Bestimmung der Krankheitsaktivität über die Antikörperkonzentration.

Literatur

1. Giudice GJ, Emery DJ, Diaz LA (1992) Cloning and primary structural analysis of the bullous pemphigoid autoantigen BP180. *J Invest Dermatol* 99(3):243-250
2. Jainta S, Schmidt E, Bröcker E-B, Zillikens D (2001) Diagnose und Therapie bullöser Autoimmundermatosen der Haut. *Deutsches Ärzteblatt* 98(20):A1320-A1325
3. Sitaru C, Dähnrich C, Probst C, Komorowski L, Blöcker I, Schmidt E, Schlumberger W, Rose C, Stöcker W, Zillikens D (2007) Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies. *Exp Dermatol* 16(9):770-777
4. Dilling A, Rose C, Hashimoto T, Zillikens D, Shimanovich I (2007) Anti-p-200-Pemphigoid: a novel autoimmune subepidermal blistering disease. *J Dermatol* 34(1):1-8
5. Preisz K, Kárpáti S (2007) Paraneoplastic Pemphigus. *Orv Hetil* 148(21):979-983
6. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Sanzen N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Koga H, Karashima T, Yasumoto S, Zillikens D, Sekiguchi K, Hashimoto T (2009) Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Feb 24;106(8):2800-2805
7. Probst C, Schlumberger W, Stöcker W, Recke A, Schmidt E, Hashimoto T, Zhu XJ, Zillikens D, Komorowski L (2009) Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus. *Clin Chim Acta* 410(1-2):13-18, Epub Sep 6,2009

Autoantikörperbildung

Synonym(e)

Bildung von Antikörpern gegen Autoantigene

Englischer Begriff

Production of autoantibodies

Definition

Bildung von Antikörpern, die gegen Antigen-Determinanten des eigenen Organismus gerichtet sind.

Volltext

Die Bildung von Autoantikörpern geschieht durch Plasmazellen, die sich aus autoreaktiven B-Zellen entwickeln. Mechanismen, die zur Bildung von Autoantikörpern führen; siehe Autoimmunität.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper

Autoimmunität

Autoantikörper gegen Acetylcholin-Rezeptoren

Synonym(e)

Acetylcholin-Rezeptor-Antikörper; AChR-Antikörper

Englischer Begriff

Acetylcholine receptor antibodies ACHRAB

Synthese/Verteilung/Abbau/Elimination

Das korrespondierende Antigen ist auf der motorischen Endplatte der Skelettmuskelfasern lokalisiert. Die Acetylcholin-Rezeptoren der Skelettmuskulatur sind aus zwei α - sowie je einer β -, δ - und γ - bzw. ϵ -Einheit zusammengesetzt. Gegen alle Untereinheiten können Autoantikörper gebildet werden, die meisten sind jedoch gegen eine Region des extrazellulären Teils der α -Ketten gerichtet. Die α -Ketten enthalten auch die Bindungsstellen für den Neurotransmitter Acetylcholin bzw. seine Agonisten wie Nikotin oder Toxine wie α -Bungarotoxin.

Von den Acetylcholin-Rezeptoren der motorischen Endplatte sind muskarinische Acetylcholin-Rezeptoren des parasympathischen Nervensystems zu unterscheiden. Diese werden ebenfalls durch Acetylcholin aktiviert, aber auch durch Muscarin.

Funktion und Pathophysiologie

Die korrespondierenden Autoantikörper binden sich an die Acetylcholin-Rezeptoren der motorischen Endplatte und behindern die neuromuskuläre Reizübertragung. Die Antikörper-beladenen Rezeptoren werden darüber hinaus in die Zellen aufgenommen und abgebaut, wodurch sich ihre Anzahl reduziert. Es stehen nicht mehr ausreichend viele Acetylcholin-Rezeptoren für die neurogene Muskelaktivierung und damit die Muskelkontraktion zur Verfügung. Wiederholte Nervenimpulse verschlimmern die Situation, da die verbliebenen Acetylcholin-Rezeptoren hierdurch noch desensitiviert werden. Das Resultat sind Muskelschwäche und Ermüdbarkeit der Skelettmuskeln. Die ausgeprägte Schwäche lebenswichtiger Muskeln kann zum Tode führen. Das entsprechende Krankheitsbild wird als Myasthenia gravis (MG) bezeichnet.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Acetylcholin-Rezeptor-Antikörper werden derzeit mittels Radiorezeptorassay bestimmt: Nach Inkubation des Patientenserums mit 125 I-Bungarotoxin-markierten, gereinigten Acetylcholin-Rezeptoren wird durch einen Sekundär-Antikörper präzipitiert und die Radioaktivität im Präzipitat gemessen. ELISA-Systeme sind noch in Entwicklung, für die indirekte Immunfluoreszenz gibt es seit neuem mit spezifischem Antigen transfizierte humane Zell-Linien.

Referenzbereich — Frauen

Negativ: <0,25 nmol/l; grenzwertig: 0,25-<0,40 nmol/l; positiv: ab 0,40 nmol/l

Referenzbereich — Männer

Negativ: <0,25 nmol/l; grenzwertig: 0,25-<0,40 nmol/l; positiv: ab 0,40 nmol/l

Referenzbereich — Kinder

Negativ: <0,25 nmol/l; grenzwertig: 0,25-<0,40 nmol/l; positiv: ab 0,40 nmol/l

Indikation

Myasthenia gravis

Interpretation

Anti-Acetylcholinrezeptor-Antikörper (ACHRAB) gelten als pathognomonisch für die MG. Bei 75-90 % der Patienten mit aktiver und generalisierter MG und bei 45-70 % der Personen mit okulärer Myasthenie sind ACHRAB nachweisbar. Bei Patienten mit erblichen Formen der MG (etwa 5-10 % aller Fälle) werden keine ACHRAB gefunden. Die diagnostische Spezifität der ACHRAB für die MG ist nahezu 100 %, auch gegenüber anderen muskulären Erkrankungen. Die Bestimmung der ACHRAB eignet sich gut zur Überwachung des individuellen Krankheitsverlaufs, da ihre Serumkonzentration mit der Intensität der Muskelschwäche korreliert.

Literatur

1. McConville J, Vincent A (2002) Diseases of the neuromuscular junction. *Curr Opin Pharmacol* 2(3):296-301
2. Lindstrom JM (2000) Acetylcholine receptors and myasthenia. *Muscle Nerve* 23(4):453-477

Autoantikörper gegen α -Fodrin

Synonym(e)

α -Fodrin-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies to α -Fodrin

Definition

Autoantikörper gegen α -Fodrin reagieren mit dem 120 kDa großen Fragment eines Moleküls, das im Zusammenhang mit apoptotischen Prozessen beim Abbau von Cytoskelett-Strukturen entsteht. Es wurde eine Assoziation mit dem Sjögren-Syndrom beschrieben.

Funktion und Pathophysiologie

Fodrin ist einer der Hauptbestandteile des Cytoskeletts mit einer Heterodimer-Struktur. Die α -Untereinheit bindet unter anderem Actin, Colmodulin und CD45.

Man vermutet, dass eine Infiltration von Lymphocyten in das Drüsengewebe zu einer verminderten Sekretion und zu apoptotischen Prozessen führt. Während das native Protein nicht (auto-)immunogen ist, entsteht beim Zellabbau das 120 kDa große Fragment, das möglicherweise die Antikörper induziert.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Bei der Immunantwort gegen α -Fodrin findet man in der Regel sowohl IgG- als auch IgA-Antikörper. Sie lassen sich durch ELISA, Immunblot oder Immunpräzipitation nachweisen. Das entsprechende Antigen gewinnt man durch chromatographische Aufreinigung oder seit einiger Zeit auch durch rekombinante Expression in geeigneten Vektoren.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

1997 beschrieben Haneji et al. eine Assoziation von Autoantikörpern gegen α -Fodrin mit dem Sjögren-Syndrom. In nachfolgenden Studien wurden bei 25 % bis über 90 % der Patienten α -Fodrin-Autoantikörper gefunden. Auch bei der seltenen Durchblutungsstörung Moya-Moya-Syndrom sollen α -Fodrin-Antikörper vorkommen.

Diagnostische Wertigkeit

Die Spezifität der Autoantikörper gegen α -Fodrin für das Sjögren-Syndrom ist möglicherweise nicht ausreichend. Der Beweis für den diagnostischen Wert dieses Parameters steht noch aus.

Literatur

1. Haneji N, Nakamura T, Takio K, Yanagi K, Higashiyama H, Saito I, Noji S, Sugino H, Hayashi Y (1997) Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjogren's syndrome. *Science* 276(5312):604-607
2. Ulbricht KU, Schmidt RE, Witte T (2003) Antibodies against alpha-fodrin in Sjogren's syndrome. *Autoimmun Rev* 2(2):109-113

Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Aminoacyl-transfer-RNS-Synthetasen, Aminoacyl-tRNS-Synthetase-Antikörper, Anti-Synthetase-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies against aminoacyl-transfer RNA synthetases, aminoacyl-tRNA synthetase antibodies, anti-synthetase antibodies

Definition

Antikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen richten sich gegen cytoplasmatische, Ribosomen-assoziierte Enzyme, welche die Bindung der einzelnen Aminosäuren an die betreffende t-RNS katalysieren. Es gibt Hinweise darauf, dass Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen in geringer Konzentration auch in Zellkernen vorkommen.

Bezeichnung	Funktion	Abkürzung	Molekularmasse (kDa)
Jo-1	Histidyl-t-RNS-Synthetase	HisRS	55
PL-7	Threonyl-t-RNS-Synthetase	ThrRS	83
PL-12	Alanyl-t-RNS-Synthetase	AlaRS	110
OJ	Isoleucyl-t-RNS-Synthetase	IleRS	145
EJ	Glycyl-t-RNS-Synthetase	GlyRS	85
SC	Lysyl-t-RNS-Synthetase	LysRS	71
KS	Asparaginyll-t-RNS-Synthetase	AsnRS	63

Untersuchungsmaterial

Serum und Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen eine feingranuläre bis homogene cytoplasmatische Fluoreszenz. Auch die Zellkerne weisen in vielen Fällen eine distinkte scharfe Punktierung auf: Nach neuen Erkenntnissen sind diese Enzyme nicht ausschließlich im Cytoplasma lokalisiert, sondern bei einigen Species auch im Zellkern zu finden (Azad et al.). Die Ausgangsverdünnung ist 1:100, es wird vorwiegend die Immunglobulinklasse IgG untersucht.

Die verschiedenen Autoantikörper gegen Bestandteile des Cytoplasma sind durch das Fluoreszenzmuster teilweise nur schwer voneinander zu differenzieren. Deshalb sollten bei einer positiven Cytoplasma-Reaktion im IIFT zur genauen Identifizierung der Autoantikörper monospezifische Testsysteme (ELISA, Immunblot) mit aufgereinigten nativen oder rekombinant hergestellten Zielantigenen Jo-1, PL-7, PL-12 usw. eingesetzt werden.

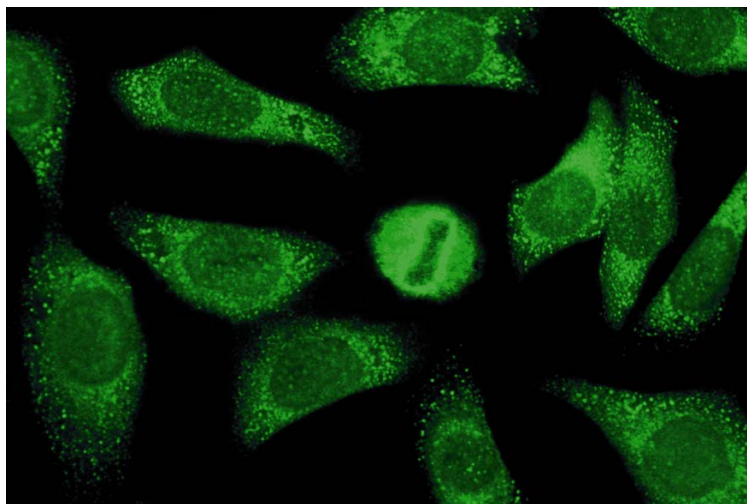


Abb. 4 Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen.
Hier: Autoantikörper gegen Jo-1. Substrat HEp-2-Zellen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Interpretation

Autoantikörper gegen Aminoacyl-t-RNS-Synthetasen sind mit einem charakteristischen klinischen Syndrom, dem "Anti-Synthetase-Syndrom", vergesellschaftet. Leitsymptome bei 90 % der Antikörper-positiven Patienten sind (Poly-) Myositis, insbesondere zusammen mit fibrosierender Alveolitis. Weitere Symptome systemischer Autoimmunerkrankungen (Arthritis, Raynaud-Syndrom etc.) können hinzukommen. Autoantikörper gegen t-RNS-Synthetasen sind in ca. 90 % der Fälle gegen Jo-1 gerichtet.

Literatur

1. Nishikai M, Reichlin M (1980) Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum* 23(8):881-888
2. Bernstein RM, Morgan SH, Chapman J, Bunn CC, Mathews MB, Turner-Warwick M, Hughes GR (1984) Anti-Jo-1 antibody: a marker for myositis with interstitial lung disease. *Br Med J* 289(6438):151-152
3. Azad AK, Stanford DR, Sarkar S, Hopper AK (2001) Role of nuclear pores of aminoacyl-t-RNA synthetases in tRNA nuclear export. *Mol Biol Cell* 12(5):1381-1392

Autoantikörper gegen Amphiphysin

Synonym(e)

Amphiphysin-Antikörper

Englischer Begriff

Amphiphysin autoantibodies

Definition

Erstmals bei Patienten mit Stiff-Man-Syndrom (SMS) identifizierte Autoantikörper, die gegen das in synaptischen Vesikeln der Neuronen vorliegende Amphiphysin gerichtet sind.

Synthese-Verteilung-Abbau-Elimination

Es sind zwei Formen des Amphiphysin I beschrieben, die durch alternatives Splicen entstehen. Die Isoform 1 wandert in der SDS-PAGE bei etwa 128 kDa und befindet sich in hohen Konzentrationen in den synaptischen Vesikeln der Nervenzellen. Die Isoform 2 (108 kDa) wird außerhalb des Nervengewebes normalerweise nur in geringen Mengen gebildet (Brustdrüse, endokrine Zellen, Spermatozoen).

Funktion und Pathophysiologie

Diskutiert wird eine Beteiligung von Amphiphysin I an der Endocytose synaptischer Vesikel. Von Tumoren extraneural exprimiertes Amphiphysin I (Mammakarzinom, kleinzelliges Lungenkarzinom) induziert vermutlich Autoimmunreaktionen. Parallel zum Auftreten der gegen Amphiphysin I gerichteten Antikörper entwickelt sich ein Stiff-Man-Syndrom.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Indirekter Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Kleinhirn: Dichte cytoplasmatische Färbung des Stratum moleculare, fleckige Färbung des Stratum granulosum. Abgrenzung gegen Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase durch Westernblot aus Hirn-Homogenat: Antigenbande bei 128 kDa.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen Amphiphysin dient der Abklärung neuromuskulärer Symptome, insbesondere zur Differentialdiagnose des Stiff-Man-Syndroms.

Amphiphysin-Antikörper weisen auf eine paraneoplastische Ursache hin und machen eine Tumorsuche erforderlich, während Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase für ein idiopathisches SMS sprechen.

Literatur

Saiz A, Dalmau J, Butler MH, Chen Q, Delattre JY, De Camilli P, Graus F (1999) Anti-amphiphysin I antibodies in patients with paraneoplastic neurological disorders associated with small cell lung carcinoma. J Neurol Neurosurg Psychiatry 66(2):214-7

Autoantikörper gegen Annexin A5

Synonym(e)

Annexin-A5-Antikörper, Autoantikörper gegen Annexin A5

Englischer Begriff

Annexin A5 antibodies

Funktion und Pathophysiologie

Annexin A5 (ursprüngliche Bezeichnungen Annexin-V oder „placental anticoagulant protein I“) ist ein starker Gerinnungshemmer, es wird vom Trophoblasten der Placenta, von Thrombocyten und von Endothelzellen exprimiert. Indem es mit anionischen Phospholipiden Komplexe bildet, behindert es deren gerinnungsauslösende Wirkung: Auf der Außenseite der Plasmamembran eukaryontischer Zellen befinden sich normalerweise keine negativ geladenen Phospholipide. Unter bestimmten Bedingungen, wie zum Beispiel der Thrombocyten-Aktivierung oder der Apoptose, gelangt jedoch das anionische Phospholipid Phosphatidylserin an die Außenseite der Plasmamembran. Aufgrund seiner hohen, kalziumabhängigen Affinität zu Phosphatidylserin bindet sich Annexin A5 an die Phosphatidylserin-haltigen Membranbereiche und bildet einen zweidimensionalen kristallinen Proteolipidkomplex aus, wodurch Phospholipid-abhängige Koagulationsreaktionen, wie die Prothrombin-Aktivierung, inhibiert werden.

Autoantikörper gegen Annexin A5 stören die Ausbildung der kristallinen Struktur und führen zu einer Destabilisierung des Gerinnungssystems. Möglicherweise hängt die Thrombose-induzierende Wirkung bestimmter Anti-Phospholipid-Antikörper ursächlich mit der Verdrängung von Annexin A5 zusammen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

ELISA mit rekombinantem Annexin A5. Tomer et al. beschreiben einen Flow-cytometrischen „Annexin-A5-Kompetitionstest“

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Anti-Phospholipid-Syndrom. In Zusammenhang mit Schwangerschaften erhöhtes arterielles sowie venöses Thromboserisiko, mögliche intrauterine Schädigung des ungeborenen Kindes.

Literatur

1. Rand JH, Wu XX, Lapinski R, van Heerde WL, Reutelingsperger CP, Chen PP, Ortel TL (2004) Detection of antibody-mediated reduction of annexin A5 anticoagulant activity in plasmas of patients with the antiphospholipid syndrome. *Blood* 104(9):2783-2790
2. Tomer A, Bar-Lev S, Fleisher S, Shenkman B, Friger M, Abu-Shakra M (2007) Antiphospholipid antibody syndrome: the flow cytometric annexin A5 competition assay as a diagnostic tool. *Brit J Haematol* 139(1):113-120

Autoantikörper gegen Aquaporin-4

Synonym(e)

AQP4-Autoantikörper, Neuromyelitis-optica-(NMO-)IgG

Englischer Begriff

Aquaporin 4 autoantibodies, neuromyelitis optica (NMO) IgG

Definition

Die von den Erstbeschreibern als „NMO-IgG“ bezeichneten Autoantikörper rufen in der indirekten Immunfluoreszenz (IIFT) auf Geweben des ZNS eine charakteristische Anfärbung der Virchow-Robin-Räume entlang der kleinen Arteriolen in der grauen und weißen Substanz hervor. Als Zielantigen wurde das Protein Aquaporin-4 (AQP4) identifiziert.

Funktion und Pathophysiologie

Bei Aquaporin-4 handelt es sich um einen Wasserkanal, der an der Regulation der Wasser- und Elektrolytbalance im ZNS beteiligt ist und auf Astrocyten, vorwiegend im Bereich der glialen Endfüßchen, exprimiert wird. Diese Wasserkanäle kommen besonders häufig in jenen Abschnitten des ZNS vor, die bei der Neuromyelitis optica (NMO) klassischerweise befallen sind: Sehnerven und Rückenmark. Autoantikörper gegen Aquaporin-4 werden von peripheren Plasmazellen gebildet und führen nach Bindung an ihr Zielantigen im ZNS zu einer Aktivierung von Komplement mit lokaler entzündlicher Demyelinisierung und Nekrose. Das Krankheitsbild entspricht einer Neuritis nervi optici und einer lokalen Myelitis über drei oder mehr Wirbelsäulensegmente mit vorwiegender Lokalisation an oder in der Nähe der Blut-Hirn-Schranke.

Die NMO wurde früher als eine lokalisierte Sonderform der Multiplen Sklerose (MS) angesehen. Nach dem heutigen Wissensstand handelt es sich um ein hinsichtlich der Pathogenese grundlegend gesondertes Krankheitsbild. Im Gegensatz zur MS, die nach wie vor als überwiegend T-Zell-vermittelte Erkrankung gilt, scheinen für die Entstehung der NMO humorale Mechanismen verantwortlich zu sein, was sich auch in der selektiven Assoziation mit den Autoantikörpern gegen Aquaporin-4 widerspiegelt.

Analytik

Eine Bestimmung der Aquaporin-4-Autoantikörper ist mittels Radioimmunpräzipitationsassay (RIPA) möglich, die Sensitivität beträgt aber nur 56 %. Alternativ wurde ein Fluoreszenz-Immunpräzipitationstest (FIPA) beschrieben, und es gibt auch einen auf Zellsortierung (FACS) basierenden Test, bei dem transient mit Aquaporin transfizierte HEK-293-Zellen als Antigen-Target eingesetzt werden.

Methode der Wahl ist heute der indirekte Immunfluoreszenztest mit Aquaporin-4-transfizierten HEK-Zellen als Substrat (Human Embryonic Kidney Cells). Sie erzeugen im Cytoplasma eine leicht identifizierbare flächige, glatte bis feingranuläre Fluoreszenz. Die Sensitivität des konventionellen IIFT beträgt 65 %, bei einer Spezifität von 100 %. Die Sensitivität kann weiter auf über 85 % gesteigert werden, wenn ein Komplementschritt dazwischengeschaltet wird: Erst die Probe, dann AB-Serum als Komplementquelle, dann FITC-markiertes Anti-C1q oder -C3 oder -C4. Dann zeigen die Gewebeschnitte nahezu aller Bereiche des ZNS im positiven Falle eine ausgeprägte streifige Fluoreszenz.

Mit einem Biochip-Mosaik, das zusätzlich Gefrierschnitte von Kleinhirn, Großhirn, Hippocampus und Sehnerv sowie weitere Zellsubstrate mit rekombinant exprimierten neuronalen Antigenen enthält, lassen sich die Reaktionen im selben Ansatz überprüfen, und gleichzeitig werden weitere differentialdiagnostisch relevante Autoantikörper erfasst, was in vielen Fällen eine schnelle und sichere (ggf. unvermutete) lebenswichtige Diagnose zur Folge hat.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4°C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20°C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Labordiagnostisch sichert die Untersuchung der Autoantikörper gegen Aquaporin-4 die Diagnose Neuromyelitis optica (NMO, besser: Optikospinale Enzephalomyelitis, Devic-Syndrom). Diese entzündliche Autoimmunerkrankung ist eine seltene Form (ca. 1 %) aus der Gruppe der erworbenen demyelinisierenden Erkrankungen des Zentralnervensystems (ZNS) mit Abbau der isolierenden Nervenummantelungen mindestens eines Sehnervs (Neuritis nervi optici) und gleichzeitig oder wenige Monate später des Rückenmarks (Myelitis). Die Krankheitszeichen der NMO sind zum einen akute Sehstörungen bis hin zur Erblindung (Amaurosis) eines oder beider Augen innerhalb von Stunden bis Tagen, zum anderen Symptome eines Querschnittssyndroms mit teilweise aufsteigender Symptomatik, Sensibilitätsstörungen, Muskelschwäche bzw. Lähmung der Extremitäten sowie Kontrollverlust von Darm- und Harnblase, die sich akut oder innerhalb von 1 bis 14 Tagen entwickeln. Histologisch finden sich Entmar-

kungsherde (ähnlich denen bei MS), die sich gut zurückbilden können. Daneben kommt es aber häufig auch zu bleibenden Schäden durch Gewebsuntergang (Nekrose).

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Aquaporin-4-Autoantikörper auch bei Patienten mit isolierter longitudinaler extensiver (drei oder mehr Segmente) transverser Myelitis (LETM) sowie bei Patienten mit isolierter rekurrerender Optikusneuritis (ON) nachweisbar sind. Aufgrund der wiederholt gezeigten starken Assoziation der Aquaporin-4-Autoantikörper mit der NMO geht man davon aus, dass es sich bei den seropositiven LETM- und ON-Fällen um inkomplette Formen der NMO handelt.

Die Diagnostik der Autoantikörper gegen Aquaporin-4 ist äußerst einfach – der IIFT dauert nur eine Stunde und die Reaktionen sind am Mikroskop leicht zu interpretieren. Das Repertoire der neurologischen Notfalldiagnostik sollte umgehend um diesen Parameter ergänzt werden.

Literatur

1. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, Nakashima I, Weinshenker BG (2004) A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: Distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 364(9451):2106-2112.
2. Weinshenker BG, Wingerchuk DM (2008) Neuromyelitis optica: clinical syndrome and the NMO-IgG autoantibody marker. *Curr Top Microbiol Immunol* 318:343-356
3. Jarius S, Probst C, Borowski K, Franciotta D, Wildemann B, Stöcker W, Wandinger KP (2010) Standardized method for the detection of antibodies to aquaporin-4 based on a highly sensitive immunofluorescence assay employing recombinant target antigen. *J Neurol Sci* 291(1-2):52-56

Autoantikörper gegen Asialoglykoprotein-Rezeptoren (ASGPR)

Synonym(e)

ASGPR-Antikörper

Englischer Begriff

Asialoglycoprotein receptor antibodies

Definition

Antikörper gegen den Asialoglykoprotein-Rezeptor, einen leberspezifischen, membranständigen Rezeptor, der an der Endocytose galactosehaltiger Glykoproteine beteiligt ist. Der Asialoglykoprotein-Rezeptor ist wesentlicher Bestandteil der komplexen Antigenpräparation LSP (leberspezifische Proteine).

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen Asialoglykoprotein-Rezeptoren können mittels Radioimmuntest, Enzymimmuntest und Immunblot nachgewiesen werden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Asialoglykoprotein-Rezeptoren haben eine zu niedrige Krankheitsspezifität für die Autoimmunhepatitis und werden deshalb nur sporadisch untersucht (im Vordergrund steht hier die Bestimmung der Autoantikörper gegen Zellkerne, dsDNS, Actin glatter Muskeln, Lebercytosol LC-1, LKM und vor allem SLA). Prävalenzen: Aktive Autoimmunhepatitis 83-87 %, virale Hepatitis 2-57 %, Primär-biliäre Lebercirrhose 14 %, alkoholische Lebererkrankungen 8 %, nicht-hepatische Autoimmunerkrankungen 0-11 %, Lebertumoren 11 %.

Literatur

McFarlane BM, McSorley CG, Vergani D, McFarlane IG, Williams R (1986) Serum autoantibodies reacting with the hepatic asialoglycoprotein receptor protein (hepatic lectin) in acute and chronic liver disorders. J Hepatol 3(2):196-205

Autoantikörper gegen Augenmuskelproteine

Synonym(e)

Augenmuskel-Autoantikörper, Autoantikörper gegen Augenmuskelgewebe

Englischer Begriff

Eye muscle autoantibodies, extra ocular muscle autoantibodies

Definition

Autoantikörper, die gegen Proteine der Augenmuskeln gerichtet sind. Sie stehen in Verdacht, an Autoimmunprozessen in Zusammenhang mit der endokrinen Orbitopathie beteiligt zu sein. Hierfür gibt es noch keine ausreichenden Beweise, gegen TSH-Rezeptoren des retrobulbären Bindegewebes gerichtete Autoimmunreaktionen scheinen eine größere Rolle zu spielen.

Struktur

Die Augenmuskeln enthalten mehrere Proteine, die Zielstrukturen für Autoimmunprozesse darstellen könnten. Zu diesen Proteinen gehören das G2s-Protein, welches als Untereinheit des Transkriptionsfaktors FOXP1 identifiziert wurde, das D1-Membranprotein (Leiomodulin) und das Fp-Protein, die Flavoprotein-Untereinheit des Enzyms Succinat-Dehydrogenase.

Funktion und Pathophysiologie

Die Basedow'sche Erkrankung stellt eine autoimmune Form der Schilddrüsenüberfunktion dar, die oft zusammen mit einer endokrinen Ophthalmopathie (Orbitopathie, Exophthalmus) einhergeht. Es gibt auch Fälle einer Ophthalmopathie ohne Schilddrüsenfunktionsstörung. Autoantikörper gegen TSH-Rezeptoren der Schilddrüse sind ein pathogenetisch relevantes Kennzeichen des M. Basedow, sie richten sich außer gegen Schilddrüsengewebe auch gegen Fibroblasten, Binde- und Fettgewebe der Augenhöhlen, der prätibialen Haut und mehrerer Organe. Damit in Zusammenhang stehen die extrathyreoidalen Manifestationen wie Exophthalmus und Myxödem, mit Entzündung und Schwellung des Binde- und Fettgewebes in den entsprechenden Bereichen. Im Frühstadium der Krankheit erkennen T-Lymphocyten Antigene des retrobulbären Bindegewebes. Es konnte gezeigt werden, dass auch die Fibroblasten des Augenhöhlengewebes TSH-Rezeptoren an ihrer Oberfläche tragen. Sie werden damit zum Ziel für die T-Zellen und die Antikörper. Die Fibroblasten der Augenhöhle bilden vermehrt flüssigkeitsbindende Moleküle, die sogenannten Glykosaminoglykane. Im Laufe der Zeit hypertrophiert das Bindegewebe, drängt die Muskelfasern auseinander und beeinträchtigt sie in ihrer Funktion. Die Augenmuskeln schwellen an (Ödem). Mononukleäre Zellen wandern vermehrt in das Binde-, Fett- und Muskelgewebe der Augenhöhlen ein. Die ausgelöste Reaktion kann sich durch Bildung von Entzündungsbotenstoffen, sogenannten Cytokinen, Interleukinen, Wachstumsfaktoren, Prostaglandinen und anderen Faktoren selbst unterhalten und verstärken. Die Schwellung des Gewebes und die mechanische Beeinträchtigung führen zu einer Raumnot in den Augenhöhlen.

Neben den TSH-Antikörpern sind weitere Autoantikörper gegen Augenmuskelgewebe beschrieben worden. Diese Autoantikörper sind unter anderem gegen die G2s-, D1- und Fp-Proteine gerichtet. Es wird schon seit 20 Jahren darüber spekuliert, ob sie bei der Pathogenese der Orbitopathie eine Rolle spielen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen das D1-Protein erfolgt durch einen Westernblot, Autoantikörper gegen die G2s- und Fp-Proteine werden mittels Radioimmunpräzipitation untersucht. Die Immunfluoreszenz liefert keine brauchbaren Ergebnisse.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Endokrine Ophthalmopathie

Interpretation

Antikörper gegen die G2s- und Fp-Proteine werden von einigen Autoren als sensitive Marker für die Schädigung der Augenmuskeln aufgefasst.

Literatur

Mizokami T, Salvi M, Wall JR (2004) Eye muscle antibodies in Graves' ophthalmopathy: pathogenic or secondary epiphenomenon? *J Endocrinol Invest* 27(3):221-229

Autoantikörper gegen BPI

Synonym(e)

Autoantikörper gegen BPI, Autoantikörper gegen Bakterizidie/Permeabilität-erhöhendes Protein, Anti-BPI-Antikörper, Anti-Bactericidal Permeability Increasing Protein, Anti-CAP 57

Definition

BPI ist ein kationisches, für gramnegative Bakterien toxisches Membran-assoziiertes Protein.

Molmasse

55 kDa

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Siehe hierzu auch Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (ANCA, cANCA, pANCA).

Antikörper gegen BPI zeigen in der Immunfluoreszenz ein cANCA-Muster, das manchmal in ein pANCA übergeht. Bei positiven oder fraglichen Immunfluoreszenz-Ergebnissen sind zur Absicherung und Differenzierung der Befunde ELISA mit definierten, aus humanen Granulocyten isolierten Zielantigenen notwendig.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Keine, da Autoantikörper gegen BPI bei verschiedenen Erkrankungen vorkommen können und keinen differential-diagnostischen Nutzen haben.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen BPI scheinen generell bei Entzündungsreaktionen gebildet zu werden und weisen keine Krankheitsspezifität auf. Sie wurden u. a. beschrieben bei Cystischer Fibrose, ANCA-assoziierten Vaskulitiden, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Autoimmunhepatitis, primär-sklerosierender Cholangiitis und HIV-Infektionen.

Literatur

Schultz H, Weiss J, Carroll SF, Gross WL (2001) The endotoxin-binding bactericidal/permeability-increasing protein (BPI): a target antigen of autoantibodies. J leukoc Biol 69(4):505-512

Autoantikörper gegen C1q

Synonym(e)

Autoantikörper gegen die Komplement-Komponente C1q

Englischer Begriff

Autoantibodies to C1q

Funktion und Pathophysiologie

Das Glykoprotein C1q steht am Anfang der Komplementkaskade. Autoantikörper gegen C1q können gegen Epitope im globulären Teil des Moleküls gerichtet sein sowie gegen die "collagenartige Region" (CLR).

Bei SLE binden sich Fc-Fragmente der Immunkomplexe an die globuläre Domäne des C1q und aktivieren dadurch den klassischen Komplement-Weg. Bei dem hypokomplementären urtikarischen Vasculitis-Syndrom (HUVS) liegen die Zielstrukturen in der CLR-Region des C1q-Moleküls.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Die Standard-Methode zum Nachweis von Autoantikörpern gegen C1q ist der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Autoantikörper gegen C1q bestehen vorwiegend aus IgG, daneben kommt vereinzelt auch IgA vor. Zu ihrem Nachweis wird die ELISA-Technik eingesetzt. Die Wand der Reaktionsgefäße ist dabei mit chromographisch gereinigtem C1q beschichtet.

Um die Bindung im Patientenserum enthaltener Immunkomplexe an C1q auszuschließen, wird die Reaktion in Anwesenheit einer 1 M NaCl-Lösung durchgeführt. Die hohe Salzkonzentration verhindert, dass zirkulierende Immunkomplexe erfasst werden, erlaubt aber die Kopplung der Autoantikörper.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

1984 wurden erstmals Autoantikörper gegen C1q in Seren von Patienten mit Systemischem Lupus erythematoses (SLE) nachgewiesen. Später wurden diese Antikörper auch bei anderen Autoimmunerkrankungen gefunden. Hierzu zählen das Sjögren-Syndrom und die Mikroskopische Polyangiitis. Von besonderer Bedeutung ist die Assoziation mit den Immunkomplex-Erkrankungen Hypokomplementäres Urtikaria-Vaskulitis-Syndrom (HUVS), in ca. 50 % der Fälle mit SLE kombiniert: Anti-C1q-Antikörper sind das Hauptkriterium für die Erkrankung und Lupus-Nephritis.

Klinische Zeichen des lebensbedrohlichen HUVS sind chronische autoreaktive Urtikaria, Gefäßödeme, Polyarthrit, Konjunktivitis und teilweise letal verlaufende Glomerulonephritis und obstruktive Lungenerkrankung.

Bei SLE beträgt die Prävalenz der Antikörper gegen C1q 30 %, bei HUVS nahezu 100 %.

Auch bei Rheumatoider Arthritis werden sporadisch Antikörper gegen C1q gefunden, insbesondere bei der Sonderform Felty-Syndrom (Arthritis, Leukopenie und Splenomegalie).

Interpretation

Autoantikörper gegen C1q sind nicht spezifisch für eine bestimmte Autoimmunerkrankung, liefern aber insbesondere beim SLE wesentliche Informationen zur Beurteilung der Krankheitsaktivität. Sie werden in durchschnittlich 45 % der SLE-Fälle nachgewiesen, in über 90 % bei Patienten mit Lupus-Nephritis. Hier liegt der Anti-C1q-Autoantikörper-Spiegel im Durchschnitt ca. 5 mal höher als bei SLE-Patienten ohne Nierenbeteiligung. Ein negatives Anti-C1q-Autoantikörper-Testergebnis bei SLE schließt eine Nierenbeteiligung mit hoher Wahrscheinlichkeit aus und lässt auf eine Prognose für die Lupus-Nephritis von unter 5 % schließen.

Die Bestimmung der Anti-C1q-Autoantikörper ist weiterhin von Bedeutung bei der Beurteilung von Krankheitsverlauf und Therapieerfolg bei SLE und Lupus-Nephritis. Bei erfolgreicher immunsuppressiver Behandlung der aktiven Lupus-Nephritis ist ein deutliches Absinken der Anti-C1q-Autoantikörperkonzentration zu verzeichnen. Der Serum-Titer korreliert mit dem Spiegel der Autoantikörper gegen dsDNA in fast 80 % der SLE-Fälle.

Literatur

1. Siegert CEH, Kazatchkine MD, Sjöholm A, Würzner R, Loos M, Daha MR (1999) Autoantibodies against C1q: view on clinical relevance and pathogenic roles. *Clin Exp Immunol* 116(1):4-8
2. Walport MJ (2002) Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res* 4 (Suppl 3):S279-293

Autoantikörper gegen Calciumkanäle

Synonym(e)

Autoantikörper gegen spannungsgesteuerte (spannungsabhängige) Calciumkanäle

Englischer Begriff

Autoantibodies to voltage-gated (-dependent) calcium channels (VGCC, VDCC)

Definition

Autoantikörper gegen Untereinheiten spannungsabhängiger Calciumkanäle

Struktur

Spannungsabhängige Calciumkanäle bestehen aus mehreren Membranprotein-Untereinheiten. Sie lassen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften in die folgenden Subtypen einteilen: P, Q, N, R und L. Wegen ihrer strukturellen Ähnlichkeiten werden P- und Q-Subtyp zusammen als P/Q-Typ bezeichnet. Von serologischem Interesse sind die P/Q- und N-Typ-Calciumkanäle, welche Bestandteile der präsynaptischen Verbindungsstelle für Vesikel-assoziierte synaptische Proteine sind. Die P/Q-Typ-Calciumkanäle kontrollieren offenbar die Freisetzung des Neurotransmitters Acetylcholin aus den Nervenendigungen in den synaptischen Spalt. Die N-Typ-Calciumkanäle sind für die Erregungsübertragung im vegetativen Nervensystem zuständig. In-vitro gelöste P/Q- und N-Typ-Calciumkanäle werden aufgrund ihrer hochaffinen Bindung mit markierten ω -Conotoxinen MVIIC bzw. GVIA differenziert (aus der Meeresschnecke *Conus magus*). Die P/Q- und N-Typ-Calciumkanäle besitzen immundominante Epitope auf verschiedenen Untereinheiten.

Funktion und Pathophysiologie

Das Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndrom (LEMS) ist die häufigste paraneoplastische Erkrankung in der Neurologie. Es tritt in Assoziation mit einem Tumor auf, ohne durch diesen direkt verursacht zu sein. Die für LEMS kennzeichnenden Calciumkanal-Antikörper beeinflussen die Funktion verschiedener Calciumkanal-Subtypen, indem sie die Freisetzung des Neurotransmitters Acetylcholin aus den Nervenendigungen in den synaptischen Spalt der motorischen Endplatte vermindern. Bei einer Depolarisation der präsynaptischen Membran strömt Calcium durch die Kanäle in die Nervenzelle ein und bewirkt dort die Freisetzung von Acetylcholin aus den Vesikeln. Die Autoantikörper beim LEMS führen zu einer Quervernetzung der Kanäle mit anschließender Internalisierung und Degradation. Dadurch vermindert sich die Zahl dieser Kanäle und damit auch die Ausschüttung von Acetylcholin. Die Folge ist eine Unterbrechung des neuromuskulären Signalweges in der motorischen Endplatte, was schließlich zur Ausbildung der Muskelschwäche führt.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

P/Q-Typ-Calciumkanal-Antikörper werden durch einen Radiorezeptorassay bestimmt, bei dem eine Immunpräzipitation mit ¹²⁵I-Conotoxin-markierten P/Q-Typ-Calciumkanälen stattfindet. Nach Inkubation des Patientenserums mit den markierten Calciumkanälen wird mit einem Sekundärantikörper präzipitiert und die Radioaktivität im Präzipitat gemessen. Analog werden Antikörper gegen N-Typ-Calciumkanäle untersucht, unter Verwendung ¹²⁵I-Conotoxin-markierter N-Typ-Calciumkanäle. ELISA-Systeme stehen für diese Diagnostik noch nicht zur Verfügung, durch indirekte Immunfluoreszenz sind die Antikörper nicht darstellbar.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Paraneoplastische neurologische Syndrome, LEMS.

Die LEMS-assoziierten Calciumkanal-Antikörper vom P/Q-Typ werden parallel zu den für Myasthenia gravis charakteristischen Autoantikörpern gegen Acetylcholinrezeptoren (und eventuell Autoantikörpern gegen MuSK) untersucht. Dadurch wird die klinisch oft schwierige, aber wegen der häufigen Assoziation des LEMS mit einem Karzinom wichtige Differentialdiagnose zur in dieser Hinsicht benigneren Myasthenia gravis abgesichert. Da die Konzentration der Calciumkanal-Antikörper intraindividuell mit der klinischen Aktivität eines LEMS korreliert, eignet sich ihre Bestimmung auch zur Therapiekontrolle.

Interpretation

Über 60 % der Patienten mit LEMS weisen ein kleinzelliges Bronchialkarzinom auf. Da die Diagnose des LEMS in

der Regel der klinischen Manifestation des Tumors um mehrere Jahre vorausgeht, können die Autoantikörper schon sehr früh einen ersten und entscheidenden Hinweis auf den Tumor geben.

Die Prävalenz der Autoantikörper gegen P/Q-Typ-Calciumkanäle beträgt bei LEMS mit assoziiertem kleinzelligem Bronchialkarzinom 90-100 %.

Autoantikörper gegen Calciumkanäle treten auch bei anderen paraneoplastischen Syndromen, wie z. B. paraneoplastischer Enzephalomyelopathie und cerebellarer Degeneration, sowie bei verschiedenen weiteren neurologischen Erkrankungen auf. Die meisten assoziierten Tumoren sind: Kleinzelliges Bronchialkarzinom, Mamma- und Ovarialkarzinom. Bei gesunden Blutspendern werden Autoantikörper gegen Calciumkanäle nur sporadisch nachgewiesen.

Literatur

1. Vincent A (1999) Antibodies to ion channels in paraneoplastic disorders. *Brain Pathology* 9(2):285-291
2. Lennon VA, Kryzer TJ, Griesmann GE, O'Suilleabhain PE, Windebank AJ, Woppmann A, Miljanich GP, Lambert EH (1995) Calcium-channel antibodies in the Lambert-Eaton syndrome and other paraneoplastic syndromes. *N Engl J Med* 332(22):1467-1474

Autoantikörper gegen Cardiolipin

Synonym(e)

Cardiolipin-Antikörper, ACLA, ACA (vergleiche aber: Autoantikörper gegen Zentromere)

Englischer Begriff

Autoantibodies to cardiolipin

Definition

Antikörper gegen Cardiolipin richten sich gegen den Komplex aus Cardiolipin und dem Plasmaprotein β 2-Glykoprotein I.

Funktion und Pathophysiologie

Siehe Autoantikörper gegen Phospholipide

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu 2 Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

siehe Autoantikörper gegen Phospholipide

Internationale Einheit

Die in ELISA verwendeten Standards werden üblicherweise mit einem Standardserum (Louisville APL Diagnostics, USA) kalibriert, das aber nicht als internationales Referenzserum der World Health Organisation (WHO) anerkannt ist. Eine PL-IgG-Einheit (Phospholipid-IgG) ist z. B. definiert als die Cardiolipin-Bindungsaktivität von 1 μ g/ml eines affinitätsgereinigten IgG-Cardiolipin-Antikörpers dieses Standardserums. Eine testunabhängige Standardisierung der Ergebnisse ist dadurch allerdings nicht zu erreichen, da zahlreiche weitere Einflussgrößen bei der Ergebnisfindung eine Rolle spielen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Anti-Phospholipid-Syndrom

Diagnostische Wertigkeit

siehe Autoantikörper gegen Phospholipide

Literatur

siehe Autoantikörper gegen Phospholipide

Autoantikörper gegen CENP-F

Synonym(e)

Autoantikörper gegen CENP-F-Kinetochor-Protein, Anti-p330, Anti-Mitotin, Anti-Cyclin-2

Englischer Begriff

Autoantibodies to centromere protein F, anti-mitotin

Definition

Das für CENP-F codierende Gen liegt auf Chromosom 1q32-4, einer Region, die mit verschiedenen Krebsarten in Verbindung gebracht wird. Die Zellzyklus-abhängige Expression findet hauptsächlich in der S-, G2- und M-Phase der Mitose statt.

Funktion und Pathophysiologie

Das Zielantigen ist Mitotin, es wird im Intervall zwischen S2-Phase des Zellzyklus und Mitose exprimiert. Es löst die Mitose aus und steuert ihren Ablauf. Obwohl Autoantikörper gegen CENP-F vorwiegend bei Krebspatienten zu finden sind, kann CENP-F bisher nicht als Tumor-Antigen bezeichnet werden.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen CENP-F/Mitotin werden durch indirekte Immunfluoreszenz nachgewiesen. Eine Analyse über den Westernblot ist ebenfalls möglich. Ausgangsverdünnung in der Immunfluoreszenz ist 1:100, meistens werden Antikörper aller Immunglobulinklassen untersucht.

Mit HEp-2-Zellen bietet sich ein ganz typisches Bild: Die Hälfte der Interphasekerne zeigt eine starke, fein- bis grobgranuläre Fluoreszenz, die übrigen Interphasekerne reagieren in gleicher Weise, aber zehnmals schwächer. Darüber hinaus sind die mitotischen Zellen unter Aussparung der Chromosomenregion besonders stark, glatt bis feingranulär, markiert. Es besteht Verwechslungsgefahr mit Autoantikörpern gegen PCNA (Cyclin-1): Diese färben ebenfalls nur einen Teil der Zellkerne an, die mitotischen Zellen bleiben aber dunkel. In der Zentromerenregion der mitotischen Zellen erkennt man sehr feine Pünktchen, die an Autoantikörper gegen Zentromere erinnern, aber viel filigraner sind (das Antigen scheint hier an den Chromosomen punktförmig anzusetzen), die Zentromere der Interphasekerne sind nicht mit angefärbt.

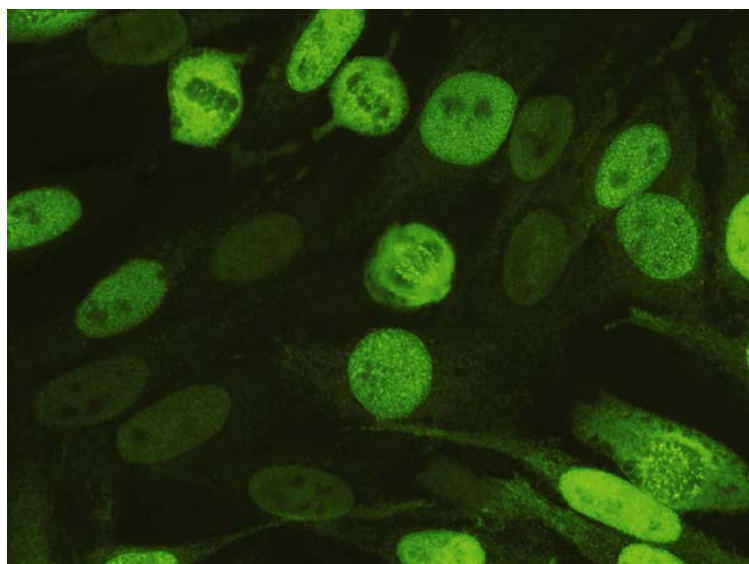


Abb. 5 Autoantikörper gegen CENP-F.
Substrat HEp-2-Zellen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen CENP-F werden meistens nicht gezielt angefordert, sondern als Zufallsbefund entdeckt.

Diagnostische Wertigkeit

Bei 50 % der Patienten mit Antikörpern gegen CENP-F liegt eine maligne Grunderkrankung vor, viele Tumoren kommen in Frage. Insbesondere hochtitrige Seren mit CENP-F-Antikörpern sollten Anlass zu einer onkologischen Abklärung geben.

Literatur

1. Casiano CA, Humbel, RL, Peebles, C, Covine, G and Tan EM (1995) Autoimmunity to the cell cycle-dependent centromere protein p330d/CENP-F in disorders associated with cell proliferation. *J Autoimmunity* 8(4): 575-586
2. Casiano CA, Landberg G, Ochs RL, Tan EM (1993) Autoantibodies to a novel cell cycle-regulated protein that accumulates in the nuclear matrix during S phase and is localized in the kinetochores and spindle midzone during mitosis. *J Cell Sci* 106(Pt 4):1045-56

Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP)

Synonym(e)

CCP-Antikörper, Autoantikörper gegen **cyclische** citrullinierte Proteine

Englischer Begriff

Autoantibodies against cyclic citrullinated peptides, autoantibodies against citrullinated proteins

Definition

Autoantikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide (CCP) richten sich gegen ringförmige, die Aminosäure Citrullin enthaltende synthetische Peptide. Citrullin befindet sich durch Cyclisierung des Peptids in exponierter Stellung und scheint so den entsprechenden Autoantikörpern besonders zugänglich zu sein. Vergleiche Autoantikörper gegen Sa!

Funktion und Pathophysiologie

Mit Rheumatoider Arthritis (RA) sind Autoantikörper gegen Proteine assoziiert, die die seltene Aminosäure Citrullin enthalten. Citrullin gehört nicht zum Repertoire der Aminosäuren, die von der DNS des Menschen codiert werden, es entsteht post-translational durch Desamidierung des Arginins. Citrullinierte Proteine konnten auch in entzündeter Synovialschleimhaut von RA-Patienten identifiziert werden, nicht jedoch in gesundem Gewebe. Es ist anzunehmen, dass citrullinierte Proteine bei RA Ziele von Autoimmunreaktionen darstellen und insofern an Entzündungsreaktion und Gewebeerstörung beteiligt sind.

Antikörper gegen cyclische citrullinierte Peptide haben deshalb vermutlich einen näheren ätiologischen Krankheitsbezug als die viel länger bekannten Rheumafaktoren (Autoantikörper gegen Immunglobuline). Diese zeigen eine sehr geringe Krankheits-Spezifität, und kommen auch bei anderen rheumatischen Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten und bei gesunden Personen vor. Dagegen findet man Autoantikörper gegen CCP nahezu ausschließlich bei RA.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Punktionsflüssigkeit

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Antikörper gegen CCP werden mittels ELISA oder Immunblot nachgewiesen. Diagnostisch relevant ist die Immunglobulinklasse IgG. Grundsätzlich können im ELISA zur Bestimmung RA-spezifischer Autoantikörper verschiedenste citrullinierte Proteine als Antigene fungieren.

Wahrscheinlich sind es die gleichen Antikörper, die man auch im indirekten Immunfluoreszenztest (IFT) darstellen kann: Hier werden sie untersucht als Autoantikörper gegen „RA-Keratin“ unter Verwendung von Rattenösophagus oder als „perinukleärer Faktor, PNF“ mit Epithelzellen humaner Mundschleimhaut als Substrate. Von diesen Antikörpern ist seit langem bekannt, dass sie sich gegen Filaggrin richten, ein Citrullin-enthaltendes epidermales Strukturprotein mit Affinität zu Cytokeratin.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Rheumatoide Arthritis

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen CCP findet man nahezu ausschließlich bei Rheumatoider Arthritis. Sie sind oft auch bei Rheumafaktor-negativer RA nachweisbar, und umgekehrt. Beide Parameter können sich daher in gewisser Weise ergänzen. Als einziger serologisch relevanter Parameter für die RA galten bis vor wenigen Jahren die Rheumafaktoren, deren Krankheitsspezifität nur dann akzeptabel ist, wenn sie hohe Titer aufweisen. Im Vergleich zu den Rheumafaktoren besitzen aber Antikörper gegen CCP bei gleicher Sensitivität (80 %) eine deutlich höhere Spezifität (97 % vs. 62 %) für die RA. Anti-CCP werden sehr früh im Verlauf der Erkrankung beobachtet, oft auch vor dem Ausbruch, und sie haben einen hohen prognostischen Wert: Patienten mit Anti-CCP-Antikörpern entwickeln signifikant mehr radiologisch nachweisbare Gelenkschädigungen als Anti-CCP-negative Patienten.

Ein positiver Anti-CCP-Wert gilt bereits nahezu als Beweis für eine RA, sofern die klinischen Symptome vorhanden sind. Ein positiver Rheumafaktor-Befund erlaubt dagegen nur eine vage Verdachtsprognose.

Autoantikörper gegen CCP kommen unabhängig von Rheumafaktoren vor. Der Begriff "seronegative RA" zur Kennzeichnung RF-negativer Fälle ist überholt und sollte nicht mehr verwendet werden. In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass bei 20-57 % aller RF-negativen RA-Patienten Antikörper gegen CCP nachweisbar sind. Die parallele Bestimmung beider Antikörper erhöht somit die serologische Trefferquote bei RA-Patienten. Die Titerhöhe korreliert im Allgemeinen mit der Schwere der Erkrankung. Antikörper gegen CCP gehören überwiegend der Klasse IgG an und besitzen eine Spezifität von über 95 % für die RA. Sie sind prädiktive Marker, da sie sich bei 70-80 % der Patienten schon sehr früh im Verlauf der Erkrankung nachweisen lassen, oft sogar schon mehrere Jahre vor den ersten Symptomen, und zwar sowohl im Serum, als auch in der Synovialflüssigkeit. Somit kann, je früher die Diagnose gestellt wird, die adäquate Therapie erfolgen. Bezüglich der Krankheitsprognose zeigen radiologische Untersuchungen, dass bei Patienten mit Anti-CCP-Antikörpern signifikant häufiger schwere Gelenkschädigungen auftreten als bei Anti-CCP-negativen Patienten.

Der allgemein hohe Stellenwert des Anti-CCP-Antikörper-Nachweises für die Diagnostik einer RA ist bei der Überprüfung des Verdachts auf eine Juvenile Idiopathische Arthritis (JIA) und beim Monitoring einer RA-Therapie eingeschränkt: Bei Patienten mit JIA treten Antikörper gegen CCP nur mit einer Prävalenz zwischen 2 % und 12 % auf, weshalb die Bestimmung der Antikörper gegen CCP bei der JIA eine untergeordnete Rolle spielt.

Die besondere Bedeutung von Autoantikörpern gegen CCP als serologische Marker zeigt sich im Vergleich zu Rheumafaktoren (RF), da bei etwa gleicher Sensitivität (Anti-CCP: 80 %, RF: 79 %) eine deutlich höhere Spezifität (Anti-CCP: 96-100 %, RF: 63 %) zu verzeichnen ist. Antikörper gegen CCP lassen sich somit auch als differentialdiagnostische Marker heranziehen, wenn es z. B. darum geht, Patienten mit Hepatitis-assoziierten Arthropathien von Patienten mit RA zu unterscheiden (z. B. Anti-CCP neg. und RF pos. bei HCV-Infektionen).

Krankheit	Prävalenz in %	
	Anti-CCP	Rheumafaktoren
Rheumatoide Arthritis	79	75
Andere Arthropathien	6	22
Systemischer Lupus erythematodes	8	46
Sjögren-Syndrom	3	73
Sklerodermie	5	25
Polymyositis/Dermatomyositis	0	27
Autoimmun-Thyreoiditis	0	20
Borreliose	2	22
Virämie	1	62
Gesunde Blutspender	0	5
Spezifität für Rheumatoide Arthritis	98	63

Literatur

Vossenaar ER, Van Venrooij WJ (2004) Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. Clin Appl Immunol Rev 4:239-262

Autoantikörper gegen Desmosomen

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Stachelzell-Desmosomen, Autoantikörper gegen Desmoglein, Desmosomen, Interzellularsubstanz. Siehe auch Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen.

Englischer Begriff

Desmoglein autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen Bestandteile der Desmosomen epithelialer Keratinocyten

Funktion und Pathophysiologie

Zielantigene sind die Glycoproteine Desmoglein (Dsg) 1 und 3 – für den Zusammenhalt des epithelialen Zellverbandes wichtige, Calcium-abhängige Adhäsionsmoleküle (Cadherine). Unter anderem die materno-fetale Übertragbarkeit der Erkrankung deutet darauf hin, dass diesen Autoantikörpern eine pathogenetische Rolle zukommt.

Die Störung der Desmoglein-vermittelten Zell-zu-Zell-Kontakte durch Autoantikörper gegen Desmoglein bildet die pathophysiologische Grundlage für die beim Pemphigus zu beobachtenden Blasenbildung der Haut bzw. Schleimhaut. In der Subcutis der betroffenen Hautareale befinden sich zahlreiche Plasmazellen, die Antikörper gegen Desmoglein sezernieren. Diese Antikörper durchdringen die Basalmembran und besetzen die Desmosomen im Epithel, wodurch diese ihre "Klebkraft" verlieren: Es bilden sich intraepitheliale Blasen.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

In-vivo gebundene Antikörper werden durch direkte Immunfluoreszenz in den betroffenen Hautarealen dargestellt. Bei der Bestimmung der Serum-Antikörper dominieren die indirekte Immunfluoreszenz und ELISA-Techniken.

Standardsubstrate für den indirekten Immunfluoreszenztest sind Primatenösophagus, -epidermis oder -zunge, Verdünnung parallel 1:10, 1:100 und 1:1.000. Intraepithelial findet sich bei einem positiven Ergebnis eine Fluoreszenz der „Interzellularsubstanz“: Eine meist wabenartige, teilweise granuläre Anfärbung der Stachelzellen, außerhalb der Zellkerne.

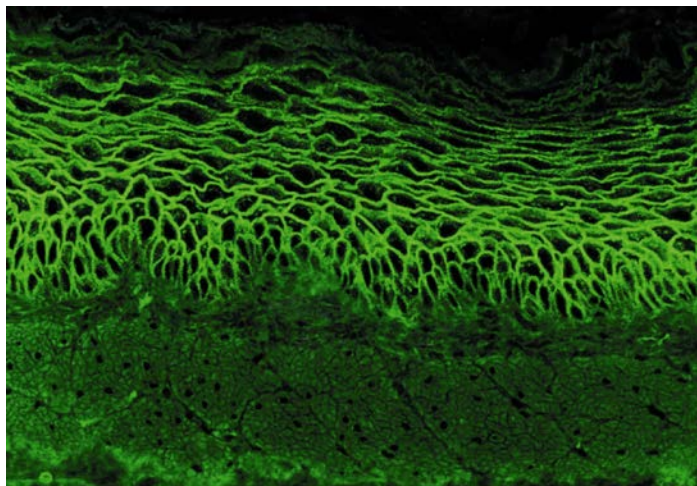


Abb. 6 Autoantikörper gegen Desmosomen (Desmoglein.) Substrat Primatenösophagus.

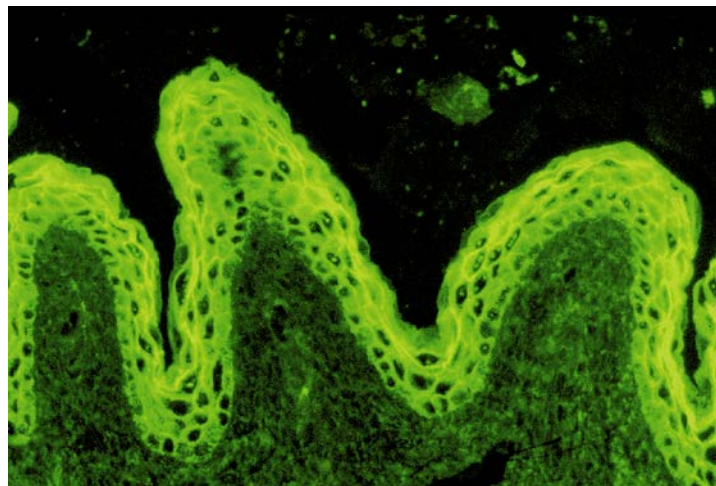


Abb. 7 Autoantikörper gegen Desmosomen (Desmoglein.) Substrat Primatenzunge.

Allerdings ist es schwierig, mit Gewebeschnitten zwischen Pemphigus foliaceus (Reaktion ausschließlich mit Dsg1) und Pemphigus vulgaris (Dsg3 allein oder Dsg1 und Dsg3) zu unterscheiden, zudem sind die Muster häufig durch unspezifische Reaktionen (z. B. durch Antikörper gegen Keratin) überlagert. Heute gehört die Verwendung rekombinanter Zellsubstrate zum Stand der Technik, je eines mit den maßgeblichen Zielantigenen Dsg1 und Dsg3. Beide werden in humanen Zell-Linien synthetisiert, in denen sie posttranslational speziegetreu und authentisch modifiziert werden. Gemeinsam mit den Gewebeschnitten bilden die transfizierten Zellen ein aussagekräftiges Mosaik, das eine Prima-vista-Diagnose in einem einzigen Testansatz erlaubt.

Entsprechende Antigene finden auch bei der Herstellung moderner ELISA-Reagenzien Verwendung. Dies führt zu Sensitivitäten von 96 % (Dsg1) bzw. 100 % (Dsg3) bei Spezifitäten von 99,1 % (Dsg1) bzw. 99,6 % (Dsg3).

Die Reagenzien sind gleichermaßen zur Primärdiagnostik, zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs sowie zur Therapiekontrolle geeignet.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Pemphigus vulgaris ist eine prognostisch ernste Erkrankung der Plattenepithel-tragenden Haut und Schleimhaut, die durch Akantholyse gekennzeichnet ist. Betroffen sind zumeist Erwachsene im Alter zwischen 30 und 60 Jahren, es können aber auch Neugeborene durch diaplaszentare Übertragung von Antikörpern erkranken. Bei Pemphigus foliaceus liegen Autoantikörper gegen Dsg1 vor, bei Pemphigus vulgaris findet man entweder Autoantikörper gegen Dsg3 allein oder gegen beide, Dsg1 und Dsg3.

Zur Pemphigus-Gruppe gehören des Weiteren: Pemphigus vegetans, herpetiformis, erythematosus sowie paraneoplastischer, Medikamenten-induzierter und IgA-Pemphigus (siehe auch Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen).

Interpretation

Patienten mit Pemphigus foliaceus weisen Antikörper gegen Dsg1 auf, die Blasenbildung ist auf die Haut beschränkt.

Bei Pemphigus vulgaris zeigen sich zu Beginn meist nur Autoantikörper gegen Dsg3, die Erkrankung manifestiert sich in diesem Stadium vorwiegend in der Mucosa. Im weiteren Krankheitsverlauf entwickelt jedoch über die Hälfte der Betroffenen auch Autoantikörper gegen Dsg1, wodurch dann die Epidermis ins Krankheitsgeschehen einbezogen wird.

Der Antikörpertiter korreliert mit der Erkrankungsaktivität.

Selten sind Antikörper gegen Dsg1 und Dsg3 auch nach Verbrennungen nachzuweisen, oder bei einem Arzneimittel-exanthem.

Literatur

1. Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ, Amagai M, Stanley JR (1999) Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest.* 103(4):461-468
2. Dähnrich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Schlumberger W, Stöcker W, Recke A, Rose C, Zillikens D, Schmidt E (2009) ELISA using ectodomains of desmoglein 1 and 3 expressed in HEK293 for sensitive and specific detection of pemphigus autoantibodies. In: Conrad et al (eds): *From pathogenesis to therapy of autoimmune diseases.* Pabst Science Publishers Vol. 6:498-499

Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS

Synonym(e)

Doppelstrang-DNS-Antikörper, Anti-dsDNS-Antikörper, Anti-nDNS-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to dsDNA

Definition

Bei Autoantikörpern gegen DNS werden grundsätzlich zwei Typen unterschieden: Autoantikörper gegen doppelsträngige, native DNS (Doppelstrang-DNS, dsDNS, nDNS) und Autoantikörper gegen einzelsträngige, denaturierte DNS (Einzelstrang-DNS, ssDNS). Autoantikörper gegen dsDNS reagieren mit Epitopen, die im Desoxyribosephosphat-Gerüst der DNS (außen) liegen. Dagegen binden sich Autoantikörper gegen ssDNS vorwiegend an Epitope aus dem Bereich der Purin- und Pyrimidinbasen.

Funktion und Pathophysiologie

Es ist weitgehend gesichert, dass Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS an der Pathogenese des systemischen Lupus erythematodes (SLE) beteiligt sind: Im Verlauf der Erkrankung werden Immunkomplexe aus Doppelstrang-DNS und den entsprechenden Autoantikörpern unter anderem in den Kapillaren der Subcutis, Niere und anderer Organe abgelagert. Hier führen sie über eine Aktivierung des Komplementsystems zu einer Gewebeschädigung.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen dsDNS können mit indirekter Immunfluoreszenz, ELISA oder RIA untersucht werden.

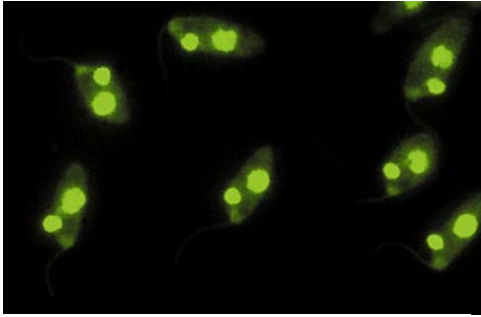
Standardsubstrat für die Immunfluoreszenz ist der Hämoflagellat *Crithidia lucilliae*. Er besitzt ein dsDNS-haltiges Riesenmitochondrium (Kinetoplast), das außer dsDNS im wesentlichen keine Antigene aufweist, die auch im Zellkern vorkommen. Antikörper, die mit dem Kinetoplasten reagieren, sind daher ausschließlich gegen dsDNS gerichtet. Sie ergeben bei *C. lucilliae* eine homogene, zum Teil randbetonte Fluoreszenz des Kinetoplasten. Eine Reaktion des Zellkerns wird nicht bewertet, die Fluoreszenz des Basalkörperchens der Geißel ist ohne Bedeutung. Antikörper gegen ssDNS können den Kinetoplasten nicht anfärben.

Bei HEp-2-Zellen zeigen Autoantikörper gegen dsDNS eine homogene Fluoreszenz der Zellkerne. Die kondensierten Chromosomen der mitotischen Zellen sind betont, die Umgebung der Chromosomen ist dunkel. Eine von manchen Autoren beschriebene periphere Fluoreszenz („rim“) beruht auf Artefakten des Substrats. Bei Primatenleber ergibt sich ebenfalls eine homogene Fluoreszenz.

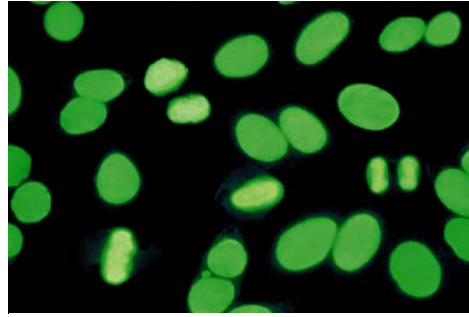
Die Sensitivität beim Nachweis der Autoantikörper gegen dsDNS ist mit *C. lucilliae* weitaus höher als mit HEp-2-Zellen oder Gefrierschnitten, zum einen aufgrund der unterschiedlichen Antigendichte im Substrat, zum anderen weil die Seren bei *C. lucilliae* um den Faktor 10 schwächer verdünnt werden als beim ANA-Standardansatz. ELISA-Systeme sind im Allgemeinen noch empfindlicher als die Immunfluoreszenz mit *C. lucilliae*, dafür ist aber die Immunfluoreszenz spezifischer für den SLE. Der RIA nach Farr erkennt vorwiegend hoch avide Antikörper und zeichnet sich daher durch einen hohen Vorhersagewert für einen SLE aus.

Der Immunfluoreszenztest mit dem Substrat *C. lucilliae* ist hochspezifisch für den SLE: Titer ab 1:10 sind bei Vorliegen der entsprechenden Symptome beweisend. Allerdings ist die Sensitivität nicht so groß wie bei ELISA und RIA. Für diese wird als Testsubstrat biochemisch aufgearbeitete dsDNS eingesetzt, bei deren Präparation artifiziell Epitope aus dem Inneren der DNS freigelegt werden können, die gelegentlich unspezifisch positive Reaktionen durch Autoantikörper gegen ssDNS verursachen. Die Spezifität eines ELISA und eines RIA hängt entscheidend von einer schonenden Präparation der eingesetzten dsDNS ab. Des weiteren neigt eukaryontisch exprimierte DNS weniger zu unspezifischen Reaktionen als bakteriell exprimierte DNS.

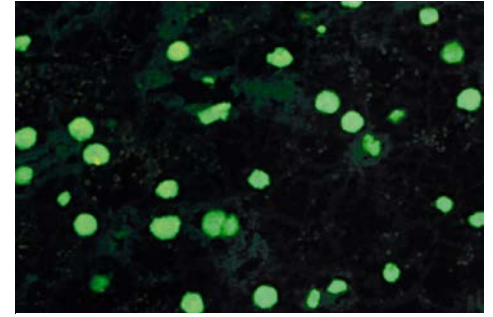
Bei der Herstellung der ELISA-Testsysteme ist es eine große Herausforderung, die isolierte dsDNS an die Oberfläche der Reagenzgefäße zu koppeln. Als Linkersubstanzen setzt man vorwiegend Poly-L-Lysin und Protaminsulfat ein, die aber oft Anlass zu falsch positiven Reaktionen geben. Ein ausgeprägtes Adhäsionsvermögen besitzen auch Nukleosomen, was man ohne Spezifitätsverlust für die Beschichtung von Oberflächen mit DNS ausnutzen kann, da Nukleosomen ebenfalls ein exklusives Zielantigen der Autoantikörper bei SLE darstellen. In einem SLE-Kollektiv von Biesen et al. wurde für ein entsprechendes ELISA-Testsystem bei einer Spezifität von 98 % eine Sensitivität von 60 % ermittelt (Anti-dsDNS RIA nach Farr: 52 %, konventioneller Anti-dsDNS-ELISA: 42 %).



**Abb. 8 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.
Substrat *Crithidia luciliae*.**



**Abb. 9 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.
Substrat HEp-2-Zellen.**



**Abb. 10 Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS.
Substrat Primatenleber.**

Internationale Einheit

Die in ELISA und RIA verwendeten Standards können mit dem internationalen Referenzserum Wo/80 der World Health Organisation (WHO) kalibriert werden. Das Wo/80-Serum enthält definitionsgemäß 200 IE/ml. Eine testunabhängige Standardisierung der Ergebnisse ist dadurch allerdings nicht zu erreichen, da zahlreiche weitere Einflussgrößen bei der Ergebnisfindung eine Rolle spielen. Dies spiegelt sich in der Tatsache wider, dass die von verschiedenen Herstellern empfohlenen Grenzwerte stark variieren.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Serologische Diagnostik des systemischen Lupus erythematodes (SLE).

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen dsDNS findet man ausschließlich bei SLE, und zwar je nach Untersuchungsmethode und Krankheitsaktivität in 40-90 % der Fälle. Diagnostisch relevant sind im ELISA Autoantikörper der Immunglobulinklasse IgG. In der Immunfluoreszenz konnte die Prävalenz der Autoantikörper gegen dsDNS bei einem (hinsichtlich der Krankheitsaktivität gemischten) SLE-Kollektiv durch Einbeziehung der Immunglobulinklassen A und M von 19 auf 29 % gesteigert werden, bei gleich hoher Spezifität von über 98 %.

Wegen ihrer hohen Spezifität gehört das Vorliegen der dsDNS-Antikörper zu den wichtigsten Kriterien für die Diagnose eines SLE. Gesund erscheinende Probanden mit Autoantikörpern gegen dsDNS entwickeln diese Krankheit innerhalb von fünf Jahren nach der Untersuchung in 85 % der Fälle. Weil die Konzentration des Antikörpers mit der Aktivität korreliert, eignen sich Titer-Bestimmungen zur Kontrolle der Therapie. Allerdings lässt sich ein SLE nicht ausschließen, wenn keine dsDNS-Antikörper nachweisbar sind.

Neben Autoantikörpern gegen dsDNS sollten bei Verdacht auf einen SLE auch Antikörper gegen Nukleosomen, Sm, Ro/SS-A, Ribosomale P-Proteine, Cardiolipin und β -2-Glykoprotein untersucht werden, einer oder mehrere dieser Autoantikörper werden bei über 90 % der Fälle mit aktivem SLE gefunden.

Literatur

1. Isenberg D, Smeenk R (2002) Clinical laboratory assays for measuring anti-dsDNA antibodies. Where are we now? *Lupus* 11:797-800
2. Biesen R, Dähnrich C, Rosemann A, Hiepe F, Egerer K, Stöcker W, Schlumberger W (2008) Anti-dsDNA-NcX ELISA is superior to Farr-RIA and IFA using *Crithidia luciliae* for SLE diagnosis. *Lupus* 17(5):506-507

Autoantikörper gegen Einzelstrang-DNS

Synonym(e)

Autoantikörper gegen ssDNS, Einzelstrang-DNS-Antikörper, Anti-ssDNS-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to ssDNA

Definition

Bei Autoantikörpern gegen DNS werden grundsätzlich zwei Typen unterschieden: Autoantikörper gegen doppelsträngige, native DNS (Doppelstrang-DNS, dsDNS, nDNS) und Antikörper gegen einzelsträngige, denaturierte DNS (Einzelstrang-DNS, ssDNS). Autoantikörper gegen dsDNS reagieren mit Epitopen, die im Desoxyribosephosphat-Gerüst der DNS (außen) liegen. Dagegen binden sich Antikörper gegen ssDNS vorwiegend an Epitope aus dem Bereich der Purin- und Pyrimidinbasen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen ssDNS gehören vorwiegend der Immunglobulinklasse IgG an und werden mittels ELISA bestimmt, mit hitzedenaturierter DNS an der Festphase. Die Speziesquelle zur Aufreinigung der DNS spielt keine Rolle, da DNS eine hochkonservierte Struktur darstellt und frei von assoziierten Proteinen sein sollte.

Durch indirekte Immunfluoreszenz werden Autoantikörper gegen ssDNS weder mit HEp-2-Zellen noch mit *Crithidia luciliae* erfasst, weil hier die DNS in nativer Form vorliegt und die entsprechenden Epitope zum größten Teil verdeckt sind.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Keine, da Antikörper gegen ssDNS bei verschiedenen Erkrankungen vorkommen können und keinen differentialdiagnostischen Nutzen haben.

Diagnostische Wertigkeit

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen ssDNS spielt diagnostisch keine entscheidende Rolle. Während Autoantikörper gegen dsDNS nahezu ausschließlich bei Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (SLE) zu finden sind, kommen Autoantikörper gegen ssDNS mit hoher Prävalenz zusätzlich auch bei vielen anderen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises vor: Progressive Systemsklerose 44 %, Sjögren-Syndrom 40 %, Polymyositis/Dermatomyositis 43 %, Rheumatoide Arthritis 12 % (gesunde Blutspender: 5-10 %).

Autoantikörper gegen Elastin

Synonym(e)

Elastin-Antikörper

Englischer Begriff

Elastin reactive autoantibodies

Definition

Sammelbezeichnung für Autoantikörper, die gegen Tropoelastin, Elastinfasern und deren Abbauprodukte (α -Elastin) gerichtet sind.

Funktion und Pathophysiologie

Die Degeneration von Elastinfasern wird als eine mögliche Ursache von Gefäßschäden diskutiert. Eine Beteiligung von Elastin-Autoantikörpern an der Pathogenese verschiedener Formen der Vasculitis konnte bisher nicht nachgewiesen werden.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

ELISA, IIFT

Referenzbereich — Frauen

nicht bekannt

Referenzbereich — Männer

nicht bekannt

Referenzbereich — Kinder

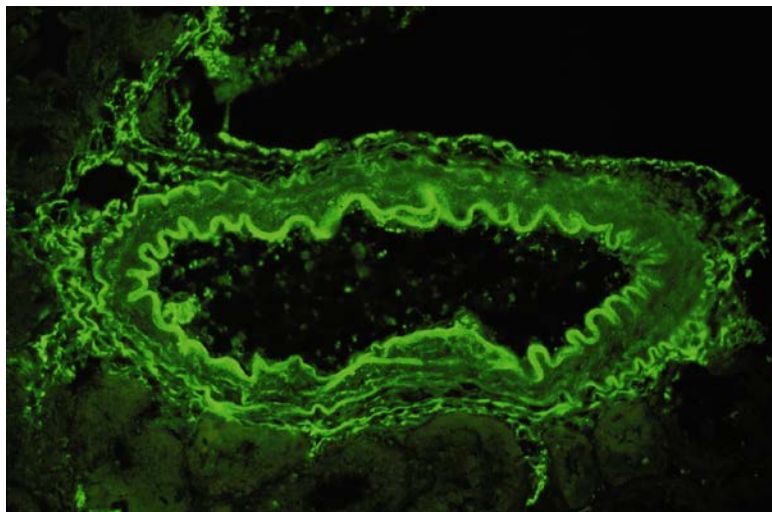
nicht bekannt

Indikation

Vaskulitis, 5 % bei Multipler Sklerose.

Interpretation

Antikörper gegen Elastin zeigen in der Immunfluoreszenz auf Arterienschnitten eine typische wellenförmige Anfärbung der Laminae elastica interna und externa.



**Abb. 11 Autoantikörper gegen Elastin.
Substrat Rattenniere.**

Die Untersuchung der Elastin-Autoantikörper ist bisher allenfalls wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten.

Literatur

Colburn KK, Langga-Shariffi E, Kelly GT, Malto MC, Sandberg LB, Baydanoff S, Green LM (2003) Abnormalities of serum antielastin antibodies in connective tissue diseases. J Investig Med Mar 51(2):104-9

Autoantikörper gegen Enterocyten

Synonym(e)

Kolonepithel-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies to colon epithelium

Definition

Autoantikörper gegen Antigene des Darmepithels. Im Gegensatz zu den diagnostisch viel wichtigeren Autoantikörpern gegen intestinale Becherzellen (Becherzell-Antikörper) haben diese Antikörper diagnostisch keine Relevanz.

Funktion und Pathophysiologie

Das Immunsystem des Darmes scheint besonders bei Morbus Crohn infolge krankheitsspezifischer Autoimmunreaktionen Antikörper gegen alle möglichen in der Darmwand präsenten Antigene zu produzieren, bedingt durch die Adjuvans-Wirkung der spezifischen Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem relevanten Autoantigen. Ebenso wie Antikörper gegen das Kolonepithel finden sich bei M. Crohn auch Anti-*Saccharomyces cerevisiae*-Antikörper (ASCA) und Antikörper gegen verschiedene Infektionserreger im Serum der Patienten.

Analytik

Für die Untersuchung der Autoantikörper gegen Enterocyten wird die indirekte Immunfluoreszenz eingesetzt, Ausgangsverdünnung ist 1:10. Es reagiert das Cytoplasma der Epithelzellen des Darmes, einschließlich der Becherzellen. Zu den verschiedenen Darmabschnitten besteht die gleiche Affinität.

Interpretation

Unter identischen Inkubationsbedingungen findet man bei M. Crohn 39 % positive Ergebnisse (Pankreas-Azinuszell-Antikörper treten mit der gleichen Prävalenz auf, zeigen aber keine Kreuzreaktion), bei Colitis ulcerosa 33 %, bei Zöliakie 10 % und bei Gesunden 14 %.

Diagnostische Wertigkeit

Wegen der geringen Krankheitsspezifität lohnt es sich nicht, diese Antikörper weiter in Betracht zu ziehen.

Literatur

Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, Jantschek G, Scriba PC (1987) Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol Suppl 139:41-52

Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran

Synonym(e)

Epidermale Basalmembran-Antikörper, Autoantikörper gegen Hemidesmosomen. Siehe auch: Autoantikörper gegen Desmosomen und Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen

Englischer Begriff

Antibodies against epidermal basement membrane

Definition

Die epidermale Basalmembran („dermo-epidermale Junctionszone“) enthält mehrere potentielle Ziele für Autoimmunreaktionen, die sich in Form unterschiedlicher bullöser Autoimmun-Dermatosen manifestieren können. Die wichtigsten bisher identifizierten Zielantigene sind das Transmembran-Protein BP180 (Kollagen Typ XVII) und das intrazelluläre Protein BP230 – beide sind Bestandteile der hemidesmosomalen Plaques. Weitere Zielantigene sind Laminin 5, Laminin- γ -1 (p200), β -4-Integrin und Kollagen Typ VII.

BP180 ist ein transmembranes Glykoprotein mit einem intrazellulär lokalisierten C-Terminus und einem extrazellulären N-Terminus. Die Ektodomäne besteht aus 15 kollagenen und 16 nicht-kollagenen (NC) Domänen, von denen NC16A (extrazellulär) unmittelbar an die Keratinocytenmembran grenzt und das wichtigste immunogene Epitop der Autoantikörper beim Bullösen Pemphigoid darstellt. Allerdings wurde BP230 als erstes Zielantigen beim Bullösen Pemphigoid identifiziert („BP-AG-1“). Es trägt mittels seiner C-terminalen Domäne zur Verankerung des Keratinfilamentsystems bei. Das N-terminale Ende von BP230 ist wichtig für seine Einbindung in die Hemidesmosomen, es interagiert mit BP180 und der β 4-Untereinheit des α -6- β -4-Integrins.

Funktion und Pathophysiologie

Die Autoantikörper werden von den Plasmazellen in der Subcutis der betroffenen Hautareale gebildet und diffundieren in Richtung der epidermalen Basalmembran. Dort führt die Bindung der Autoantikörper zur Aktivierung von Komplement und daraufhin zu Entzündungsreaktionen mit subepidermaler Blasenbildung – im Gegensatz dazu bilden sich beim Pemphigus vulgaris: (Zielrichtung: Desmosomen) intraepitheliale Blasen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

In der Immunfluoreszenz zeigen Gefrierschnitte des Ösophagus und der Zunge eine lineare Färbung zwischen Stratum basale und Bindegewebe. Einstiegsverdünnung ist 1:10. Monospezifische ELISA sind eine Alternative zur indirekten Immunfluoreszenz. Der Serumspiegel der Autoantikörper gegen BP180 korreliert mit der Krankheitsaktivität des Bullösen Pemphigoids.

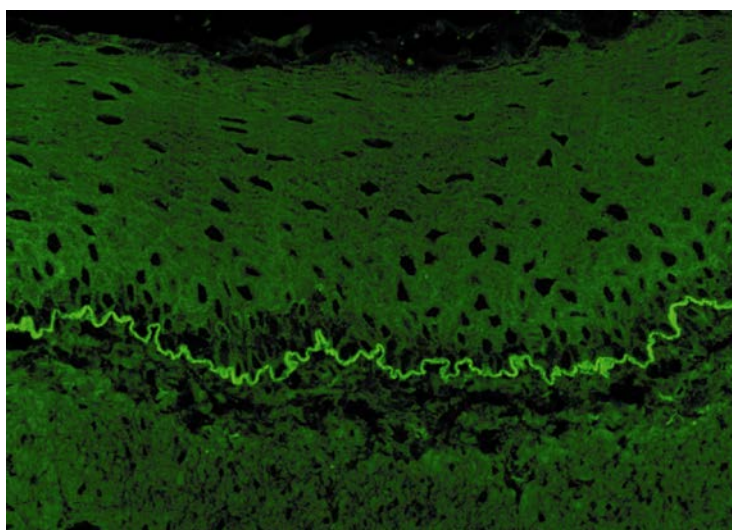


Abb. 12 Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran.
Substrat Primatenösophagus.

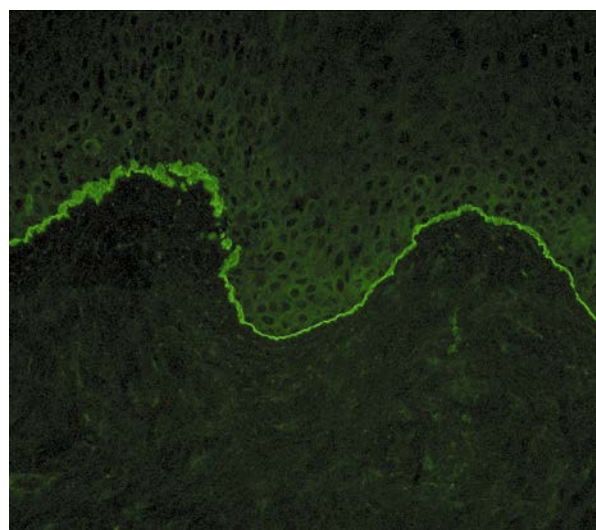


Abb. 13 Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran.
Substrat Primatenzunge.

Zur Bestimmung der Autoantikörper gegen BP180 wurden auch rekombinante Designer-Antigene entwickelt, welche vom BP180 nur die diagnostisch relevante Zielstruktur aufweisen, die NC16A-Domäne, und zwar gleich mehrmals nebeneinander. Diese Antigene werden im ELISA eingesetzt, oder man verwendet entsprechend trans-

fizierte humane Zell-Linien als Substrate für die indirekte Immunfluoreszenz. Man erhält eine Sensitivität von 90 %, bei einer bisher unerreichten Spezifität von 98 % (*Sitaru et al*). Ähnliche Diagnostika auf der Basis rekombinant hergestellter, nur die relevanten Zielantigene repräsentierender Epitope gibt es bereits auch für die Bestimmung der Antikörper gegen BP230.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Folgende Pemphigoid-Erkrankungen sind mit Autoantikörpern gegen epidermale Basalmembran assoziiert (Blasenbildung subepidermal):

- Bullöses Pemphigoid - Zielantigene: BP180 und BP230
- Pemphigoid gestationis - Zielantigen: BP180 (nur ausnahmsweise BP230)
- Anti-p200-Pemphigoid - Zielantigen: p200
- Schleimhautpemphigoid - Zielantigene: BP180, Laminin 5, β -4-Integrin und BP230
- Vernarbendes Pemphigoid - Zielantigen: Laminin 5 und C-terminales Ende des BP180
- Lineare IgA-Dermatose - Zielantigene: Vorwiegend proteolytische Fragmente der gesamten Ektodomäne des BP180
- Lichen planus pemphigoides - Zielantigene BP180, BP230
- Epidermolysis bullosa acquisita - Zielantigen: Kollagen VII (Verankerungsfibrillen)
- Bullöser systemischer Lupus erythematoses - Zielantigene siehe Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA)

Differentialdiagnostisch sind die Pemphigoid-Erkrankungen vor allem zu unterscheiden vom Pemphigus vulgaris, der durch Autoantikörper gegen Desmosomen hervorgerufen wird. Auszuschließen ist auch eine Dermatitis herpetiformis Dühring (Autoantikörper gegen epidermale und Gewebs-Transglutaminase sowie Z-AGFA: Zöliakie-assoziierte Anti-Gliadin-Fragmente-Antikörper). Siehe des Weiteren: Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen.

Literatur

1. Zhi Liu (2003) Immunopathology of bullous pemphigoid, an autoimmune and inflammatory skin blistering disease. *Keio J Med* 52(2):128-133
2. Sitaru C, Dährnich C, Probst C, Komorowski L, Blöcker I, Schmidt E, Schlumberger W, Rose C, Stöcker W, Zillikens D (2007) Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies. *Exp Dermatol* 16(9):770-777

Autoantikörper gegen Erythrocyten

Synonym(e)

Erythrocytenantikörper (EA)

Englischer Begriff

Erythrocyte antibodies, red blood cell antibodies

Definition

Antikörper, die sich gegen Antigene auf Erythrocyten richten.

Synthese/Verteilung/Abbau/Elimination

Natürliche EA kommen regelhaft bei allen Individuen vor, denen das korrespondierende Antigen fehlt, ohne dass der Anlass der Immunisierung nachvollziehbar ist (wichtigste Vertreter: anti-A/B/AB).

Irreguläre EA (Vertreter: anti-Rhesus-D, -Kell) werden als Immunreaktion auf einen nachvollziehbaren Antigenkontakt gebildet (Bluttransfusion, Schwangerschaft).

Pathophysiologie

EA mit Spezifität gegen Blutgruppenmerkmale, die das Individuum selber *nicht* besitzt (Alloantikörper), können mit transfundierten Erythrocyten reagieren und hämolytische Transfusionsreaktionen hervorrufen. Falls von schwangeren Frauen gebildete Antikörper diaplazentar übertragen werden und mit Blutgruppenmerkmalen des Feten reagieren, kann es zu einer fetalen Hämolyse kommen (Morbus haemolyticus neonatorum).

EA mit Spezifität für Blutgruppenmerkmale, die das Individuum selber besitzt (Autoantikörper), können zu einer autoimmunhämolytischen Anämie führen. Solche Antikörper treten idiopathisch oder in Verbindung mit anderen Erkrankungen (z. B. Lupus erythematoses) auf. Außerdem können verschiedene Medikamente erythrocytäre Autoantikörper induzieren.

In vielen Fällen kommt es zu einem beschleunigten Abbau von EA-beladenen Erythrocyten, entweder intravasal oder im reticulo-endothelialen System von Leber und Milz (intravasale bzw. extravasale Hämolyse). Insbesondere eine intravasale Hämolyse kann hochakut (innerhalb weniger Minuten) verlaufen. Dies geht einher mit lebensbedrohlichen systemischen Reaktionen (Beispiel: Akute Transfusionsreaktion nach der versehentlichen Gabe einer ABO-unverträglichen Blutkonserve).

Untersuchungsmaterial

Indirekter Coombstest: Serum oder Plasma

Hämolysetest: Serum

Direkter Coombstest: Erythrocytensediment aus Plasma

Analytik

Indirekter Coombstest: Inkubation Antigen-positiver Testerythrocyten mit Patientenserum; Bindung der EA an die Erythrocyten; Agglutination der EA-beladenen Erythrocyten mittels Anti-human-Immunglobulin zum Nachweis von *Alloantikörpern*. Wird meist mit Testerythrocyten der Blutgruppe Null durchgeführt, damit die nachzuweisenden irregulären Antikörper nicht durch natürliche anti-A- und anti-B-Antikörper überdeckt werden.

Direkter Coombstest: Nachweis *in vivo* an Patientenerythrocyten gebundener EA mittels Agglutination durch Anti-human-Immunglobulin, evtl. mit anschließender Elution und Spezifitätsbestimmung zum Nachweis von *Autoantikörpern*.

Die Verwendung von Enzymen zur Erhöhung der Sensitivität wird heute nicht mehr als sinnvoll erachtet. Das gleiche gilt für Tests in der „Kochsalzphase“ ohne Anti-Humanglobulin.

Gelegentlich werden für die Bestimmung der Anti-A/B-EA Hämolyseteste anstelle der Agglutinationsteste eingesetzt.

Referenzbereich

Indirekter Coombstest (irreguläre Antikörper): negativ

Direkter Coombstest: negativ

Anti-A/B-Hämolysetest: Referenzwerte müssen anhand eines Kontrollkollektives laborspezifisch ermittelt werden.

Indikation

Irreguläre (Allo-)Antikörper gegen EA werden vor jeder Bluttransfusion und im Rahmen der Schwangerenvorsorge bestimmt (indirekter Coombstest). Zur Abklärung einer immunhämolytischen Anämie wird ein direkter Coombstest durchgeführt. Beide Untersuchungen erfolgen bei Verdacht auf eine hämolytische Transfusionsreaktion.

Literatur

Mueller-Eckhard C (1996) Transfusionsmedizin. Springer, Berlin, Heidelberg

Autoantikörper gegen extrahierbare nukleäre Antigene (ENA)

Synonym(e)

Anti-ENA, siehe: Autoantikörper gegen U1-RNP, Autoantikörper gegen Sm, Autoantikörper gegen SS-A, Autoantikörper gegen SS-B

Englischer Begriff

Autoantibodies against extractable nuclear antigens

Definition

Autoantikörper gegen extrahierbare nukleäre Antigene (ENA) sind eine Untergruppe der antinukleären Antikörper (ANA). Sie reagieren mit bestimmten Zellkernproteinen, die sich aus Thymus, Milz und kultivierten Zellen mit physiologischen Pufferlösungen extrahieren lassen. Diese Zielantigene wurden bisher unter dem (inzwischen überflüssigen) Begriff „extrahierbare nukleäre Antigene“ (ENA) zusammengefasst. Hierzu gehören im engeren Sinne die Ribonukleoproteine U1-nRNP, Sm, und Ro/SS-A, das Phosphoprotein La/SS-B und im weiteren Sinne die Antigene Scl-70 und Jo-1.

Literatur

Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clinical Immunology and Immunopathology* 47(2):121-141

Autoantikörper gegen F-Actin

Synonym(e)

Autoantikörper gegen filamentöses Actin (F-Actin), F-Actin-Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against filamentous actin (F-actin)

Definition

Autoantikörper gegen filamentöses Actin (F-Actin) des cytoskelettalen Mikrofilaments und der Muskelfasern sind eine Untergruppe der Antikörper gegen glatte Muskeln (Anti-Smooth Muscle Antibody = ASMA). Im Gegensatz zu anderen ASMA sind Autoantikörper gegen F-Actin sehr spezifische Marker für eine Autoimmunhepatitis (AIH) vom Typ I.

Funktion und Pathophysiologie

Hohe Konzentrationen der Autoantikörper gegen glatte Muskeln weisen auf eine AIH hin. Ein Teil der Antikörper richtet sich gegen Konformationsepitope des F-Actins. Als molekulare Ziele der Autoantikörper gegen F-Actin wurden neben dem Actin auch Actin-bindende Proteine wie Filamin, Actinin oder Tropomyosin beschrieben.

Analytik

Autoantikörper gegen F-Actin lassen sich durch indirekte Immunfluoreszenz (IIF) mit Zellen der vaskulären glatten Muskulatur (VSM47) als Substrat bestimmen und sind an dem typischen mikrofilamentösen Fluoreszenzmuster zu erkennen. Sie färben auch typischerweise die Gefäßwände (glatte Muskulatur) sowie die Glomeruli und Tubuli der Niere an.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen F-Actin ist von besonderer Bedeutung für die Diagnose der AIH (Prävalenz etwa 50 %), den Ausschluss einer kombinierten Lebererkrankung (Overlap-Syndrom) und die Abgrenzung der AIH gegenüber einer Alkohol- oder Medikamenten-induzierten Cirrhose und anderen chronischen Entzündungen der Leber, wie Virus-induzierte Hepatitis, Primär-biliäre Lebercirrhose (PBC) und Primär-sklerosierende Cholangiitis (PSC).

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen glatte Muskeln

Literatur

1. Czaja AJ (2007) Autoimmune liver diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 23(3):255-262
2. Villalta D, Bizzaro N, Da Re M, Tozzoli R, Komorowski L, Tonutti E (2008) Diagnostic accuracy of four different immunological methods for the detection of anti-F-actin autoantibodies in type 1 autoimmune hepatitis and other liver-related disorders. *Autoimmunity* 41(1):105-110

Autoantikörper gegen GABA_B-Rezeptoren

Synonym(e)

Antikörper gegen γ -Amino-Buttersäure-Typ-B-Rezeptoren, Anti-GABA_B-Rezeptor-Antikörper, GABA_B-Rezeptor-Antikörper, GABA_BR-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies against γ -aminobutyric acid-B receptor, antibodies to the GABA_B receptor, anti-GABA_B receptor antibodies, GABA_B receptor antibodies, GABA_BR antibodies

Definition

Autoantikörper gegen transmembrane Rezeptoren, die in prä- und postsynaptischen Membranen des gesamten ZNS (insbesondere Hippocampus, Thalamus, Cerebellum) vorliegen. GABA_B-Rezeptoren sind Heterotetramere, bestehend aus jeweils zwei GABA_{B1}- und GABA_{B2}-Untereinheiten. Sie sind assoziiert mit KCTD-Proteinen (potassium channel tetramerization domain-containing proteins), welche die kinetischen und pharmakologischen Rezeptoreigenschaften bestimmen. Die immunrelevanten Epitope sind primär in der GABA_{B1}-Untereinheit lokalisiert.

Funktion und Pathophysiologie

GABA_B-Rezeptoren sind metabotrope, G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Die Bindung des inhibitorischen Neurotransmitters γ -Amino-Buttersäure (GABA) an die GABA_{B1}-Untereinheit führt über eine G-Protein-vermittelte Signalkaskade prä- und postsynaptisch zur Aktivierung von Kaliumkanälen, zum Schließen von Calciumkanälen und über die Abnahme der Calciumkonzentration zu einer reduzierten Transmitterfreisetzung aus der Präsynapse. Die Bindung spezifischer Antikörper inhibiert die Rezeptorfunktion, die Autoimmunreaktionen verursachen eine limbische Enzephalitis (Anfälle, Verwirrtheit, Gedächtnisdefizite u. a.). Entsprechend findet man ein erhöhtes Risiko für Temporallappen-Epilepsie. Die häufige Assoziation der Anti-GABA_B-Rezeptor-Enzephalitis mit kleinzelligen Bronchialkarzinomen (SCLC) und deren Fähigkeit zur Expression synaptischer Proteine spricht für die Möglichkeit einer Tumor-induzierten pathologischen Immunantwort gegen GABA_B-Rezeptoren.

Analytik

Anti-GABA_B-Rezeptor-Antikörper stellen sich im indirekten Immunfluoreszenztest mit Gefrierschitten des Hippocampus und des Cerebellum als grobgranuläre Fluoreszenz vorwiegend des Stratum moleculare dar. Der monospezifische Nachweis erfolgt mittels transfizierter HEK-293-Zellen, welche die GABA_{B1}-/GABA_{B2}-Untereinheiten rekombinant exprimieren.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen GABA_B-Rezeptoren finden sich in Serum oder Liquor von Patienten mit einer speziellen Form autoimmuner limbischer Enzephalitis, welche in 50-80 % der Fälle mit dem Auftreten eines Tumors, meist SCLC, einhergeht (fakultativ paraneoplastisch). Ein Teil der Patienten weist weitere Autoantikörper (z. B. gegen TPO, GAD65, SOX1, VGCC) auf. Nach Anti-Hu-Antikörpern stellen Anti-GABA_B-Rezeptor-Antikörper die zweithäufigste Immunreaktivität bei limbischer Enzephalitis mit SCLC dar. Positive Antikörperbefunde sollten daher eine intensive Tumorsuche nach sich ziehen.

Es empfiehlt sich, zusätzlich die wichtigsten anderen Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene parallel zu untersuchen, was in vielen Fällen eine schnelle und sichere (ggf. unvermutete) lebenswichtige Diagnose zur Folge hat.

Akuttherapie: Methylprednisolon iv und Immunglobulin-Konzentrate oder Plasmapherese.

Eskalation: Cyclophosphamid und Rituximab. Langzeittherapie: Ggf. Azathioprin.

Literatur

1. Lancaster E, Lai M, Peng X, Hughes E, Constantinescu R, Raizer J, Friedman D, Skeen MB, Grisold W, Kimura A, Ohta K, Iizuka T, Guzman M, Graus F, Moss SJ, Balice-Gordon R, Dalmau J (2009) Antibodies to the GABA_B receptor in limbic encephalitis with seizures: case series and characterisation of the antigen. *Lancet Neurol* 9(1):67-76
2. Boronat A, Sabater L, Saiz A, Dalmau J, Graus F (2011) GABA_B receptor antibodies in limbic encephalitis and GAD-associated neurologic disorders. *Neurology* 76(9):795-800
3. Wandinger KP, Klingbeil C, Gneiss C, Waters P, Dalmau J, Saschenbrecker S, Borowski K, Deisenhammer F, Vincent A, Probst C, Stöcker W (2011) Neue serologische Marker zur Differentialdiagnose der Autoimmunen Enzephalitis. *J Lab Med* 35(6):329-342

Autoantikörper gegen Gallengangsepithel

Englischer Begriff

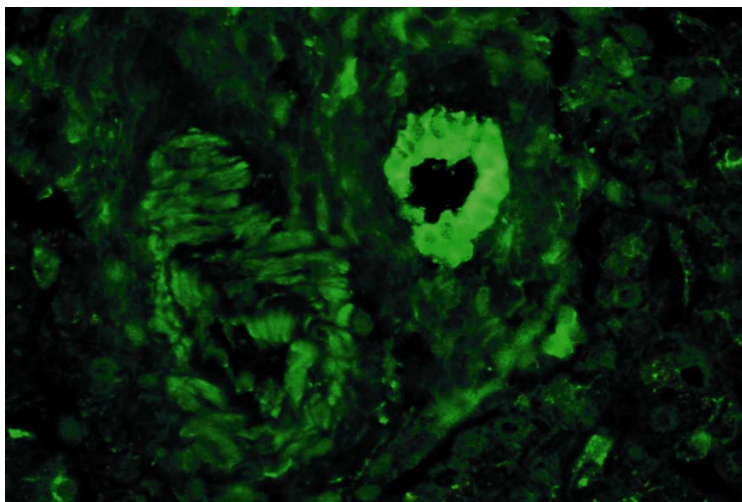
Bile duct antibodies

Definition

Autoantikörper gegen das Epithel der Gallengänge

Volltext

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Ratten- oder Primatenleber beobachtet man eine charakteristische glatte Fluoreszenz des Gallengangsepithels im Bereich der Glisson'schen Trias. Parallel findet man bei positiven Seren immer eine gleichartige Fluoreszenz des Ductus pancreaticus und des Peritonealepithels. Diese Reaktionen wurden bisher als unspezifisch angesehen (Jeffrey et al 1990), überraschenderweise findet man sie aber nahezu regelmäßig bei Patienten mit paraneoplastischen Autoimmundermatosen, wahrscheinlich bestehen Kreuzreaktionen oder es liegen Antigengemeinschaften mit Plakinen oder Plectinen vor, die auch im Übergangsepithel der Harnblase (wie auch im Epithel der Gallenblase) exprimiert werden. Eine in der indirekten Immunfluoreszenz gefundene kräftige Reaktion der Gallengänge im Substrat Leber sollte daher immer mit den Substraten Harn- oder Gallenblase bzw. mit monospezifischen ELISA (Bestimmung der Antikörper gegen Desmoplakin 1 und 2, Envoplakin, Periplakin und Plectin) überprüft werden. Im positiven Falle sollte eine dermatologische und internistische Untersuchung angeschlossen werden (siehe auch Autoantikörper bei bullösen Autoimmundermatosen).



**Abb. 14 Autoantikörper gegen Gallengangsepithel.
Substrat Primatenleber.**

Literatur

Jeffrey GP, Swanson NR, Yarred LJ, Reed WD (1990) Bile duct antibodies crossreacting with blood group antigens in primary sclerosing cholangitis. Gut 31(6):698-701

Autoantikörper gegen Ganglioside

Synonym(e)

Gangliosid-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against gangliosides, anti-ganglioside antibodies

Definition

Autoantikörper gegen Ganglioside (Anti-GM1, -GM2, -GM3, -GD1a, -GD1b, -GT1b, -GQ1b) werden bei Patienten mit peripheren Neuropathien gefunden. Zu diesen Erkrankungen gehören z. B. das Guillain-Barré-Syndrom (GBS), die chronisch-entzündliche demyelinisierende Polyneuropathie (CIDP), die multifokale motorische Neuropathie (MMN) und das Miller-Fisher-Syndrom (MFS; ein Subtyp des GBS).

(GM1,2,3: Monosialo-Ganglioside; GD1a,b; Disialo-Ganglioside; GT1b: Trisialo-Gangliosid; GQ1b: Tetrasialo-Gangliosid).

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Zum Nachweis von Autoantikörpern gegen Ganglioside werden monospezifische Testmethoden (ELISA oder Lini-
enblot) mit aufgereinigten Gangliosiden eingesetzt.

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

Bei entzündlichen peripheren Neuropathien (GBS, CIDP, MMN oder MFS) lassen sich Autoantikörper der Klassen IgG und IgM gegen Ganglioside nachweisen, mit Prävalenzen von 20-80 % (siehe Tabelle nach Meyer et al.). Darüber hinaus sind IgG-Autoantikörper gegen GQ1b bei autoimmunvermittelten Entzündungen im Bereich des Hirnstammes (Bickerstaff-Enzephalitis) diagnostisch wegweisend.

Prävalenzen der IgG-Autoantikörper gegen Ganglioside (%)

Patientengruppe	GM1	GM2	GM3	GD1a	GD1b	GT1b	GQ1b
GBS (n = 71)	6	1	0	0	1	0	1
CIDP (n = 13)	0	0	8	0	0	0	0
MMN (n = 18)	0	6	6	0	0	0	0
MFS (n = 5)	0	0	0	0	0	0	80
Blutspender (n = 60)	0	0	0	0	0	0	0

Prävalenzen der IgM-Autoantikörper gegen Ganglioside (%)

Patientengruppe	GM1	GM2	GM3	GD1a	GD1b	GT1b	GQ1b
GBS (n = 71)	13	10	1	1	3	3	1
CIDP (n = 13)	0	8	15	23	8	0	0
MMN (n = 18)	28	22	17	11	11	6	0
MFS (n = 5)	0	0	0	0	0	0	0
Blutspender (n = 60)	3	15	0	0	0	0	0

Literatur

1. Heidenreich F (1998) Autoantibodies associated with peripheral neuropathies. In: Conrad K et al (eds) Pathogenic and diagnostic relevance of autoantibodies, Pabst Science Publishers:316-327
2. Meyer W, Schneider B, Klotz M, Schlumberger W, Stöcker W (2000) EUROLINE ganglioside profile: A new membrane test for the detection of autoantibodies against gangliosides. In: Conrad K et al. (Hrsg): In: Conrad K et al. (Hrsg) Autoantigens and Autoantibodies: Diagnostic Tools and Clues to Understanding Autoimmunity. Pabst Science Publishers:619-620

Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase

Synonym(e)

Gewebstransglutaminase-Antikörper, Anti-tTg, Anti-Endomysium-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies to tissue transglutaminase, anti-ttg

Definition

Antikörper gegen die Gewebstransglutaminase treten (meistens zusammen mit Gliadin-Antikörpern) bei der Gluten-sensitiven Enteropathie (GSE; Kleinkinder: Zöliakie, Erwachsene: einheimische Sprue) auf. Sie sind auch mit der Dermatitis herpetiformis Duhring assoziiert, die oftmals mit einer Gluten-sensitiven Enteropathie einhergeht.

Funktion und Pathophysiologie

Die Gluten-sensitive Enteropathie wird bei disponierten Personen hervorgerufen durch den Verzehr glutenhaltiger Getreideprodukte. Das Krankheitsbild ist geprägt von einer Atrophie der Dünndarm-Zotten, einer chronischen Diarrhoe und den Folgen der Malabsorption. Einige Patienten mit GSE leiden zusätzlich an Dermatitis herpetiformis Duhring – einer rezidivierenden, durch subepidermale Blasen geprägten Hauterkrankung, die auch für sich allein auftreten kann.

Die Phänomene der Gluten-sensitiven Enteropathie beruhen nur zum Teil auf allergischen Reaktionen infolge einer Gluten-Unverträglichkeit. Als Ausdruck einer zusätzlich bestehenden Autoimmunität findet man neben Antikörpern gegen Gliadin fast regelmäßig auch Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase. Bei Gesunden und Patienten mit anderen Darmkrankheiten kommen beide Antikörper praktisch nicht vor. Anti-tTg sind oft auch im inaktiven Stadium nachweisbar und zeigen bereits die Disposition für die Krankheit an. Beide Antikörper können auch Erkennungsmerkmale einer Dermatitis herpetiformis Duhring sein.

Antikörper gegen Endomysium sind offensichtlich identisch mit den 1971 von Seah entdeckten Antikörpern gegen Retikulिन. Chorzelski und Mitarbeiter fanden 1983 heraus, dass es bei diesen mit dem Bindegewebe reagierenden Antikörpern für die Zöliakie-Diagnostik auf die Immunglobulinklasse IgA ankommt, sie haben die Bezeichnung „Anti-Endomysium“ vorgeschlagen und als Substrat für die Immunfluoreszenz Primatenösophagus (unteres Drittel) empfohlen. Die Bezeichnung war zu eng gefasst, da viele andere Gewebestrukturen mitreagieren (EUROIMMUN 1989), und Ösophagus ist wegen der Verwechslungsgefahr mit Antikörpern gegen glatte Muskeln denkbar ungeeignet. Dieterich und Mitarbeiter konnten 1997 als Zielantigen die „Gewebstransglutaminase“ identifizieren.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Analytik

Goldstandard für die Bestimmung der Anti-tTg ist die indirekte Immunfluoreszenz mit Gefrierschnitten von Primatenorganen als Antigen-Substrate. Besser geeignet als Ösophagus sind: Darm, Leber, Plazenta und Nabelschnur. Mit dem Idealsubstrat Darmgewebe erhält man bei einem positiven Ergebnis eine typische membranöse Fluoreszenz der glatten Muskeln sowie eine wabenförmige Anfärbung der Lamina mucosae propria, gleichzeitig reagiert das Endothel der Blutgefäße. Als Ausgangsverdünnung des Patientenserums wird 1:10 empfohlen, Titer bis 1:1.000 sind keine Seltenheit.

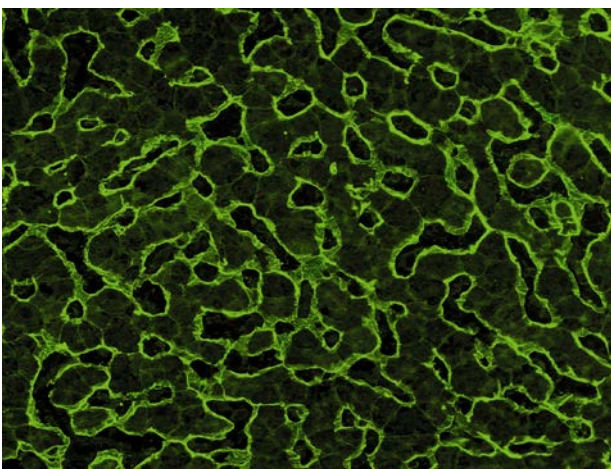


Abb. 15 Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase.
Substrat Primatenleber.

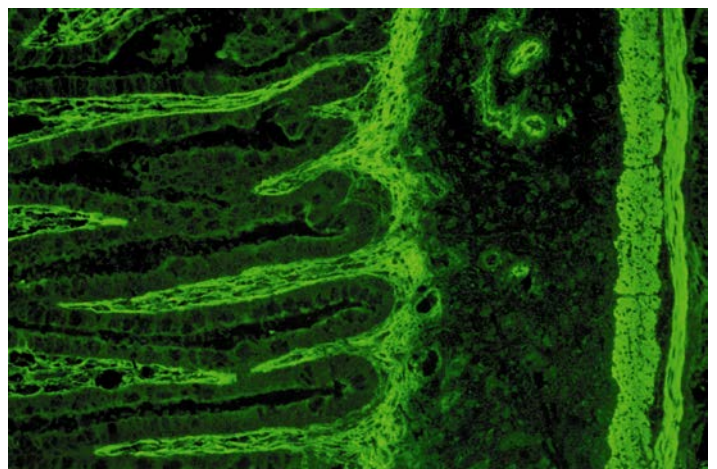


Abb. 16 Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase.
Substrat Primatendarm.

Für den ELISA wird native Gewebstransglutaminase aus humaner Plazenta oder rekombinantes humanes Antigen hochgereinigt und als Substrat zur Beschichtung von ELISA-Platten eingesetzt. Einige Diagnostika-Hersteller machen den Fehler, das Beschichtungsantigen aus Meerschweinchenleber zu isolieren, dann werden viele Zöliakie-Patienten aufgrund der zu geringen Antigenverwandtschaft nicht erfasst und es treten auch zu viele unspezifische Reaktionen auf.

Mit der GSE assoziiertes Anti-tTg besteht vorwiegend aus IgA, die Immunglobulinklasse IgG kommt, in niedriger Konzentration, nur bei 50 % der IgA-positiven Seren vor, IgM spielt keine Rolle. Man sollte trotzdem IgA und IgG parallel untersuchen, da mit der GSE häufig ein selektiver IgA-Mangel assoziiert ist. Dann findet man (bei negativem IgA) Anti-tTg der Klasse IgG in hohen Titern. Patienten mit dieser Konstellation sind vor Transfusionen mit Vollblut zu warnen.

Die Übereinstimmung zwischen Immunfluoreszenz und ELISA beträgt bei Titern ab 1:32 nahezu 100 %, sofern humane Antigene im ELISA eingesetzt werden. Diese stehen heute in hervorragender Qualität auch rekombinant zur Verfügung.

Indikation

Chronische Diarrhoe, Gedeihstörungen, retardierte Entwicklung. Chronische Dermatitis.

Ein Anti-tTg-Test ist in der Lage, zusammen mit dem Nachweis von Gliadin-Antikörpern die klinische Diagnose GSE oder Dermatitis herpetiformis Dühring abzusichern. Eine solche Analyse wird auch bei Verwandten von Zöliakie-Patienten durchgeführt, um eine entsprechende Disposition aufzudecken.

Die manifeste GSE hat in Deutschland eine Prävalenz von 90 Fällen pro 100.000 Einwohnern, sie lässt sich ohne weiteres klinisch erkennen. Eine latente Zöliakie zu diagnostizieren, ist schon wesentlich schwieriger, zum Beispiel bei Kindern mit Gedeihstörungen und retardierter Entwicklung. Weil man bei allen diesen Patienten nicht immer gleich eine Darmspiegelung veranlassen und eine Gluten-freie Diät verordnen kann, bleiben viele Verdachtsfälle nicht aufgeklärt, und mancher Zöliakiekranke wird folglich auch nicht konsequent behandelt. Die Häufigkeit der latenten Gluten-sensitiven Enteropathie wird erheblich unterschätzt, man rechnet mit 330 bis 900 Fällen pro 100.000 Personen, auf einen diagnostizierten Patienten (90 pro 100.000) kommen bis zu zehn, deren Krankheit nicht aufgedeckt wird. Es ist ein glücklicher Umstand, dass man heute durch eine einfache Laboruntersuchung Klarheit schaffen kann.

In den Lehrbüchern der Gastroenterologie findet man leider nur wenige Informationen über Autoantikörper bei der GSE, deren serologische Bestimmung diagnostisch im Wettbewerb mit der Endoskopie steht.

Interpretation

Anti-tTg kommen bei Gesunden und Patienten mit anderen Darmerkrankungen praktisch nicht vor, bei unbehandelter GSE beträgt ihre Prävalenz dagegen nahezu 100 %. Die meisten Patienten mit GSE weisen auch Antikörper gegen Gliadin auf (Prävalenz 92 %). Diese haben ihren Nutzen bei der Verlaufskontrolle und bei der Überwachung der Gluten-freien Diät oder eines Gluten-Belastungstests. Dass man sie häufig auch bei Gesunden findet, zum Beispiel bei Kleinkindern, deren Speiseplan gerade um Cerealien bereichert wurde, schränkt ihren diagnostischen Wert ein. Antikörper gegen Retikulin entsprechen den Endomysium-Antikörpern und werden heute nicht mehr gesondert herausgestellt.

Literatur

1. Seah PP, Fry L, Rossiter MA, Hoffbrand AV, Holborow EJ (1971) Antireticulin antibodies in childhood coeliac disease. *Lancet* 2(7726):681-682
2. Chorzelski TP, Sulej J, Tchorzewska H, Jablonska S, Beutner EH, Kumar V (1983) IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease. *Ann NY Acad Sci* 420:325-334
3. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D (1997) Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of coeliac disease. *Nat Med* 3(7):797-801
4. Freitag T, Schulze-Koops H, Niedobitek G, Melino G, Schuppan D (2004) The role of the immune response against tissue transglutaminase in the pathogenesis of coeliac disease. *Autoimmun Rev* 3(2):13-20

Autoantikörper gegen glatte Muskeln

Synonym(e)

ASMA (anti-smooth muscle antibodies)

Englischer Begriff

Anti-smooth muscle antibodies, ASMA

Definition

Antikörper gegen verschiedene Antigene der glatten Muskeln. Das wichtigste Zielantigen der SMA ist das Protein Actin (siehe auch Autoantikörper gegen F-Actin).

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen glatte Muskeln durch indirekte Immunfluoreszenz (Ausgangsverdünnung 1:100) können Gefrierschnitte verschiedener Organe eingesetzt werden. Es eignen sich unter anderem Magen und Darm oder Niere vieler Spezies, die eine Muskelschicht oder ausreichend viele Arterien aufweisen. Auch die Portalvenenanteile der Glisson'schen Trias bei der Rattenleber reagieren. Standardsubstrat ist Rattenmagen. SMA zeigen hier eine deutliche cytoplasmatische Fluoreszenz der Tunica muscularis propria, der Lamina muscularis mucosae einschließlich der interglandulären kontraktiven Fibrillen, die zwischen den Fundusdrüsen durch die Schleimhaut ziehen, sowie die Muskelanteile der Arterien. Bei negativen Proben weisen die kontraktiven Elemente keine Färbung auf. Eine Fluoreszenz anderer Strukturen wird nicht bewertet.

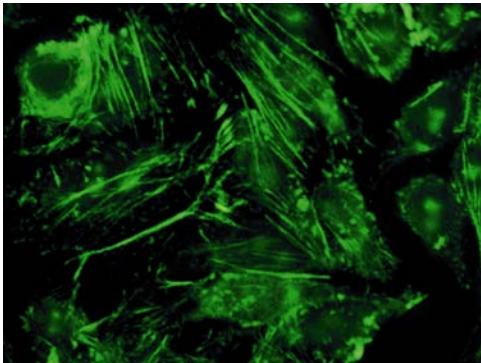


Abb. 17 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin). Substrat HEP-2-Zellen.

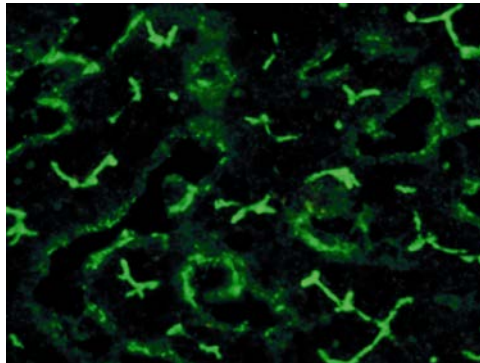


Abb. 18 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin). Substrat Primatenleber.

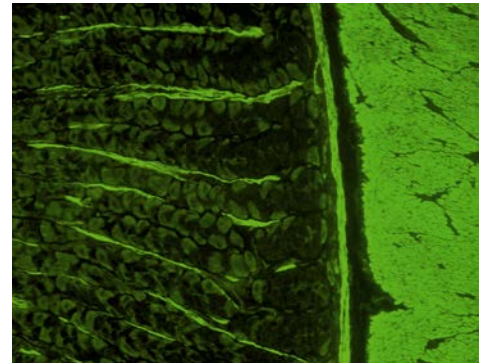


Abb. 19 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin). Substrat Rattenmagen.

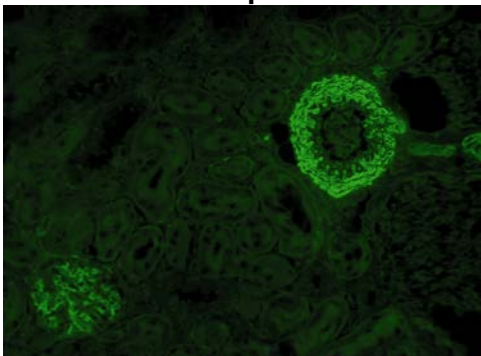


Abb. 20 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin). Substrat Rattenniere.

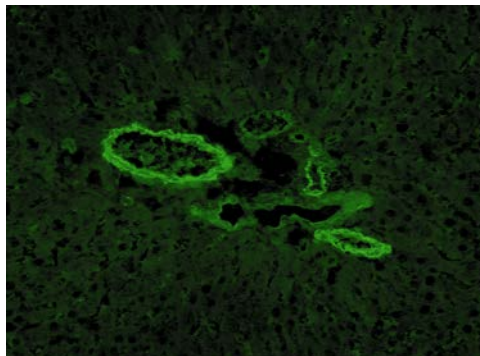


Abb. 21 Autoantikörper gegen glatte Muskeln (Typ Actin). Substrat Rattenleber.

Ein Teil der Antikörper gegen glatte Muskeln ist gegen das Protein Actin gerichtet und wird im indirekten Immunfluoreszenztest mit der Substratkombination HEP-2-Zellen und Primatenleber untersucht (Ausgangsverdünnung: 1:100). Besonders typisch ist die Fluoreszenz des Cytoskeletts der HEP-2-Zellen (einzelne bis zahlreiche gebündelte Faserstrukturen, die vorwiegend im Cytoplasma verlaufen) sowie die Anfärbung der Gallencanaliculi der Primatenleber. Antikörper gegen Actin konnten bisher weder durch ELISA noch durch Westernblot bestimmt werden, da sie gegen Konformationsepitope gerichtet sind, die nur in Gefrierschnitten erhalten bleiben.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Hohe Konzentrationen der Antikörper gegen glatte Muskeln sind mit der Autoimmunhepatitis (AIH) assoziiert, die Prävalenz beträgt 70 %. Die IgG- und IgM-Titer können mit der Aktivität der Erkrankung korrelieren. Niedrige SMA-Titer findet man auch bei Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (50 %), alkoholisch bedingter Lebercirrhose, Gallengangverschluss und bei fünf von 100 gesunden Personen.

Autoantikörper gegen glatte Muskeln (SMA) werden darüber hinaus bei infektiöser Mononukleose und anderen Virusinfektionen nachgewiesen, sowie bei systemischem Lupus erythematodes, Brust- und Ovarialkarzinomen und malignen Melanomen, sie spielen hier aber diagnostisch keine Rolle. Nach einer Virushepatitis fällt der Titer in der Regel sehr schnell wieder ab.

Literatur

Johnson GD, Holborow EJ, Glynn LE (1965) Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. *Lancet* 2(7418):878-879

Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Nierenglomeruli, GBM-Ak, Goodpasture-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against the basement membrane of renal glomeruli, anti-GBM (auto)antibodies

Definition

Zielantigen der Goodpasture-Antikörper sind α -3-Ketten des Typ-IV-Kollagens in der Basalmembran der Nierenglomeruli. Diese enthalten die relevanten Epitope des GBM-Antigens (NC-1-Domäne).

Funktion und Pathophysiologie

Das Goodpasture-Syndrom ist eine seltene Nierenerkrankung. Klinisch besteht eine Kombination aus rapid-progressiver Glomerulonephritis und Hämoptyse mit rezidivierenden Parenchymblutungen (Lungenhämosiderose). Lungenblutungen treten häufig als erstes Zeichen auf. Es sind sowohl fulminante als auch abortive Verlaufsformen zu beobachten. Etwa 70 % der Betroffenen sind Männer. Eine frühzeitige Therapie (Immunsuppression und Plasmapherese bis zur Remission) kann bei 60 % der Patienten die Nierenfunktion erhalten. Rückfälle sind möglich.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran (GBM) durch indirekte Immunfluoreszenz werden Gewebeschnitte der Primatenniere als Standardsubstrat eingesetzt. Parallel dazu kann man auch Lungengewebe als Substrat verwenden und Antikörper gegen die Basalmembran der Lungenalveolen mit untersuchen. Einstiegsverdünnung ist 1:10. Bei der Titration ist bei diesem Antikörper darauf zu achten, dass nicht mit reinem PBS verdünnt wird, da auf diese Weise zwangsläufig unspezifisch positive Reaktionen entstehen. Man verdünnt mit einem 1:10 in PBS/Tween vorverdünnten normalen Humanserum.

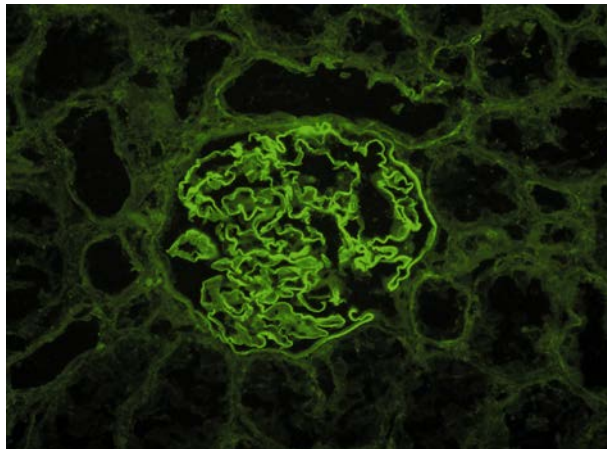


Abb. 22 Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran.
Substrat Primatenniere.

Monospezifische Testsysteme (ELISA) verwenden das hochgereinigte Autoantigen aus **Kollagen IV**.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran der Niere sind mit dem Goodpasture-Syndrom (pulmorenales Syndrom) assoziiert.

Diagnostische Wertigkeit

Eine Sonderform der Autoimmun-Glomerulonephritis ist das Goodpasture-Syndrom (pulmorenales Syndrom), benannt nach dem US-amerikanischen Pathologen Ernest William Goodpasture (1886-1960), der 1919 die Kombination einer Glomerulonephritis mit Lungenblutungen beschrieb. Dieses seltene Syndrom betrifft Männer

sechsmal so häufig wie Frauen, und zwar vorwiegend im jungen Erwachsenenalter. Klinisch ist die Kombination aus rapid-progressiver Anti-Basalmembran-Glomerulonephritis und Lungenhämosiderose kennzeichnend, wobei als erstes Zeichen häufig Lungenblutungen auftreten.

Wegen der gravierenden Bedeutung dieser Diagnostik empfiehlt es sich, IIFT und ELISA parallel anzusetzen und das Ergebnis am Tage des Probeneingangs fertig zu stellen.

Antikörper gegen GBM-Antigene sind bei entsprechender Klinik pathognomonisch für das Goodpasture-Syndrom, das 0,5-2 % aller Glomerulonephritiden ausmacht. In Fällen ohne Lungenbeteiligung lassen sich GBM-Antikörper bei Goodpasture-Syndrom (verifiziert durch eine positive IgG-Reaktion an der Basalmembran im direkten Immunfluoreszenztest an der Nierenbiopsie des Patienten) in 60 %, bei zusätzlicher Lungenbeteiligung in 80-90 % der Fälle im Serum nachweisen. Eine Reaktion der Goodpasture-Seren mit der Basalmembran der Lungenalveolen sieht man nur in Ausnahmefällen.

In vielen Fällen eines aktiven Goodpasture-Syndroms mit positivem Nachweis der Antikörper gegen die Basalmembran in der Biopsie findet man keine Antikörper im Serum, der negative serologische Befund darf daher nicht als Ausschluss eines Goodpasture-Syndroms gewertet werden. Es wird angenommen, dass in diesen Fällen die gebildeten Autoantikörper vom betroffenen Gewebe absorbiert wurden.

Ein grenzwertiges Testergebnis ist zurückhaltend zu interpretieren, damit infolge einer diagnostischen Unsicherheit keine unnötigen Folgeuntersuchungen veranlasst werden.

Der klinische Verlauf des Goodpasture-Syndroms korreliert mit der Konzentration der Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran. Hohe Titer weisen auf eine ungünstige Entwicklung hin. Bei negativem Befund und weiter bestehendem Verdacht auf eine Anti-GBM-Glomerulonephritis ist eine Nierenbiopsie angezeigt.

Literatur

1. Hellmark T, Johannson C, Wieslander J (1994) Characterization of anti-GBM antibodies involved in Goodpasture's syndrome. *Kidney Int* 46:823-829
2. Bolton WK, Chen I, Hellmark T, Fox J, Wieslander J (2005) Molecular mapping of the Goodpasture's epitope for glomerulonephritis. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 116:229-236, discussion 237-238

Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase

Synonym(e)

Autoantikörper gegen GAD, GAD65-Antikörper, GADA

Englischer Begriff

Glutamic acid decarboxylase autoantibodies

Definition

Das Enzym Glutamat-Decarboxylase (GAD) katalysiert die Synthese des Neurotransmitters γ -Amino-Buttersäure (GABA), es besteht aus den zwei Isoenzymen GAD65 und GAD67. Der Nachweis der Autoantikörper gegen das 65-kDa-Protein der Glutamat-Decarboxylase ist Bestandteil der Diagnostik des Insulin-abhängigen Diabetes mellitus. Eine weitere starke Assoziation besteht zu einer seltenen neurologischen Erkrankung: Dem Stiff-Man-Syndrom.

Volltext

Im Zuge der Autoimmunreaktion kommt es bei einem Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (IDDM) sehr früh zur Bildung von Autoantikörpern gegen verschiedene Inselzell-Antigene, deren Bestimmung für die Diagnose des Typ-1-Diabetes und dessen Prädiktion bei Verwandten ersten Grades von Diabetikern eine große Bedeutung erlangt hat: Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD), Tyrosin-Phosphatase (insulinoma associated antigen IA2), weitere cytoplasmatische Inselzellbestandteile und Insulin. Einer oder mehrere dieser Autoantikörper gegen GAD (GADA), IA2 (IA2A), cytoplasmatische Inselzellantigene (ICA) und Insulin (IAA) sind bei fast allen Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose des Typ-1-Diabetes nachweisbar.

Bei Typ-1-Diabetes kommt es in der Regel zu einer Autoimmunreaktion gegen GAD65, es bestehen aber Kreuzreaktionen mit GAD67.

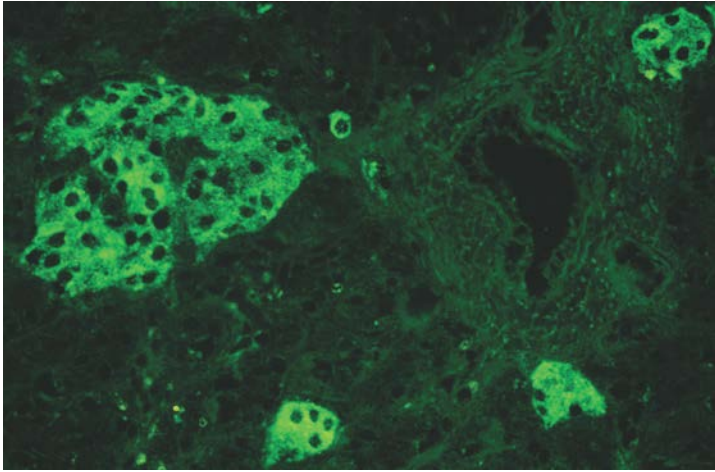
Liegen Autoantikörper gegen Pankreasinseln oder deren Bestandteile vor, ist ein Diabetes mellitus in der Regel mit Insulin zu behandeln, und nicht mit insulin-stimulierenden Medikamenten, die den Autoimmunprozess durch verstärkte Antigen-Expression nur anfachen würden.

Bezüglich einer besonderen Verlaufsform des Typ-1-Diabetes (LADA, latent insulinpflichtiger autoimmuner Diabetes im Erwachsenenalter) dienen GADA und ICA außer zur Unterscheidung vom Typ-2-Diabetes auch als Vorhersagekriterium für eine sekundäre Insulinpflichtigkeit der Patienten.

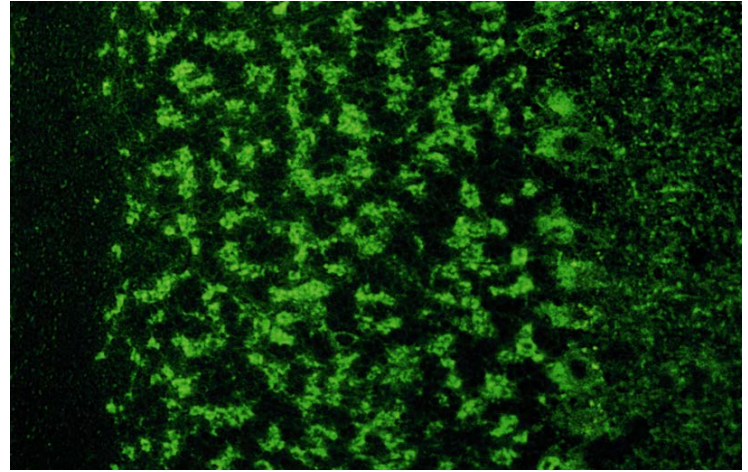
Antikörper gegen GAD in Serum und CSF sind auch bei 60-100 % der Patienten mit Stiff-Man-Syndrom (SMS) nachweisbar. Die Patienten leiden unter Muskelsteifigkeit und Spasmen besonders im Bereich der Wirbelsäule und der unteren Extremitäten, was häufig zu Deformationen des Skeletts führt.

Analytik

Autoantikörper gegen GAD lassen sich durch indirekte Immunfluoreszenz, Radioimmuntests und Enzymimmuntests bestimmen. Ein speziell konfigurierter ELISA, bei dem die GADA zwischen Festphase-immobilisiertem GAD und markiertem GAD aus der flüssigen Phase umfängen werden, zeigt eine zu den gegenwärtig verwendeten radioaktiven Methoden vergleichbare Sensitivität und Spezifität. Der ELISA ist gut reproduzierbar, einfach durchzuführen und somit geeignet zur Untersuchung großer und kleiner Probenserien in der Routineanalytik. Der IIFT ist in diesem Fall weniger sensitiv als der Radioimmuntest oder der ELISA. Als Substrate werden im IIFT Gewebeschnitte von Primatenpankreas und Primatenkleinhirn eingesetzt. Mit positiven Seren werden die Pankreasinseln, sowie die Körnerschicht und die Molekularschicht des Kleinhirns sehr feingranuliert cytoplasmatisch angefärbt. Die Körnerschicht zeigt eine (stärkere) „Leopardenfell-ähnliche“ Fluoreszenz, die Molekularschicht eine (schwächere) gleichmäßige Fluoreszenz, unter Aussparung der Zellkerne. Es reagiert die graue Substanz auch aller anderen Regionen des zentralen Nervensystems. Die Fluoreszenz sowohl der Inselzellen als auch der grauen Substanz konnte durch eine Inkubation der Diabetiker-Seren mit homogenisiertem humanem Gyrus praecentralis neutralisiert werden. Einige Pankreasinsel-Antikörper-positive Seren von Patienten mit Diabetes mellitus reagieren nicht mit grauer Substanz. Bei diesen bringt die Vorinkubation mit dem Homogenat auch keine Reduktion des Antikörper-Titers.



**Abb. 23 Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase.
Substrat Primatenpankreas.**



**Abb. 24 Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase.
Substrat Primatenkleinhirn.**

Dass Antikörper gegen Pankreasinseln bei Typ-1-Diabetes mellitus gegen die graue Substanz des Gehirns gerichtet sein können (Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase, GAD), wurde unabhängig voneinander zuerst beschrieben von Baekkeskov et al. (1990) und von Stöcker et al. (1990).

Untersuchungsmaterial

Serum oder Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen GAD (GADA) werden bei 70-90 % der neu diagnostizierten Typ-1-Diabetiker gefunden. Vor Ausbruch der Erkrankung weisen sie auf ein hohes individuelles Diabetesrisiko hin und gelten als Marker der sogenannten prädiabetischen Phase. Um ein mögliches Diabetesrisiko im individuellen Fall gut abschätzen zu können, sollte eine Kombination aller Diabetes-mellitus-relevanten Autoantikörper (GADA, IA2A, IAA, ICA) getestet werden. Ist einer der Parameter positiv, kann man versuchen, den Ausbruch eines Diabetes mellitus durch geeignete Maßnahmen zu verhindern: Immunsuppression oder Diabetiker-Diät (unbeschäftigte Pankreasinseln exponieren weniger Autoantigene) über mehrere Jahre.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln

Literatur

1. Baekkeskov S, Aanstoot HJ, Christgau S, Reetz A, Solimena M, Cascalho M, Folli F, Richter-Olesen H, De Camilli P (1990) Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 347(6289):151-6
2. Stöcker W, Schaper J, Schuhose C, Vieregge P, Kömpf D, Scriba PC (1990) Autoantibodies against cerebral gray matter in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *Immunobiol* 181:223
3. Vieregge P, Branczyk B, Barnett W, Stöcker W, Soyka D, Kömpf D (1994) Stiff-Man-Syndrom. Bericht über vier Fälle. *Nervenarzt* 65(10):712-717
4. Pozzilli P, Manfredi S, Monetini L (2001) Biochemical markers of type 1 diabetes: clinical use. *Scand J Clin Lab Invest* 61 (Suppl. 235):38-44
5. Krüger C, Stöcker W, Schlosser M (2006) Glutamic Acid Decarboxylase Autoantibodies. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL (Hrsg) *Autoantibodies*. 2. Aufl. Elsevier 369-378

Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren, Typ AMPA

Synonym(e)

AMPA-Rezeptor-Autoantikörper, Anti-AMPA-Rezeptor-Antikörper

Englischer Begriff

AMPA receptor autoantibodies, anti- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-propionic acid receptors

Definition

Autoantikörper gegen α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol-Propionsäure (AMPA)-Rezeptoren. Siehe auch: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene.

Funktion und Pathophysiologie

AMPA-Rezeptoren bilden eine Untergruppe der Glutamat-Rezeptoren, der am weitesten verbreiteten Neurotransmitter-Rezeptoren im Zentralnervensystem. Sie sind aus vier Untereinheiten mit einer Masse von jeweils etwa 100 kDa aufgebaut, die mit GluR1 bis GluR4 (alternativ *gria1* bis *gria4*) bezeichnet werden. AMPA-Rezeptoren sind wichtig für die synaptische Plastizität. An vielen Synapsen, wie z. B. im Hippocampus oder im Kleinhirn, wird die Dichte der AMPA-Rezeptoren in der postsynaptischen Membran abhängig von der Aktivität der Synapse reguliert.

Analytik

Autoantikörper gegen AMPA-Rezeptoren lassen sich durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmen: Auf dem Substrat Hippocampus zeigt sich bei positiver Reaktion eine charakteristische Anfärbung der Molekularschicht (Neuropilfärbung). Zum monospezifischen Nachweis werden AMPA-Rezeptoren exprimierende transfizierte HEK-(Human Embryonic Kidney)-Zellen als Substrat eingesetzt.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen AMPA-Rezeptoren finden sich bei einer Untergruppe von Patienten mit einer autoimmunvermittelten limbischen Enzephalitis, Entzündung des medialen Temporallappens, der Corpora amygdalea und des orbitofrontalen Cortex. Charakteristische Symptome sind eine Störung des Kurzzeitgedächtnisses, Verhaltensauffälligkeiten und epileptische Anfälle. Bei 70 % der Patienten mit Antikörpern gegen AMPA-Rezeptoren liegt zusätzlich ein Bronchialkarzinom, Mammakarzinom oder malignes Thymom vor (paraneoplastisches Syndrom).

Mit Antikörpern gegen die Untereinheit GluR3 ist die Rasmussen-Enzephalitis assoziiert, eine Enzephalitis des Kindesalters, die sich als chronisch-progressive Epilepsie manifestiert. Sie beschränkt sich auf nur eine Großhirn-Hemisphäre und kann zur Atrophie ganzer Gehirnregionen führen. Die Patienten verlieren im Laufe der Zeit zunehmend an motorischen und sprachlichen Fähigkeiten. Hinzu kommt eine progressive Demenz. Der Antikörpertiter korreliert mit der Häufigkeit der Anfälle und ein Plasmaaustausch führt zur Besserung. Aber allein eine chirurgische Exzision der betroffenen Region verhindert, dass die Krankheit fortschreitet (Theodore Rasmussen war ein berühmter Neurochirurg in Montreal).

Literatur

1. Rogers SW, Andrews PI, Gahring LC, et al. (1994) Autoantibodies to glutamate receptor GluR3 in Rasmussen's encephalitis. *Science* 265(5172):648–651
2. Granata T (2003) Rasmussen's syndrome. *Neurol Sci Suppl* 4:239-243
3. Lai M, Hughes EG, Peng X, Zhou L, Gleichmann AJ, Shu H, Matà S, Kremens D, Vitaliani R, Geschwind MD, Bataller L, Kalb RG, Davis R, Graus F, Lynch DR, Balice-Gordon R, Dalmau J (2009) AMPA receptor antibodies in limbic encephalitis alter synaptic receptor location. *Ann Neurol* 65(4):424-434

Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren, Typ NMDA

Synonym(e)

NMDA-Rezeptor-Autoantikörper, Anti-NMDA-Rezeptor-Antikörper

Englischer Begriff

NMDA receptor autoantibodies, anti-NMDA receptor antibodies

Definition

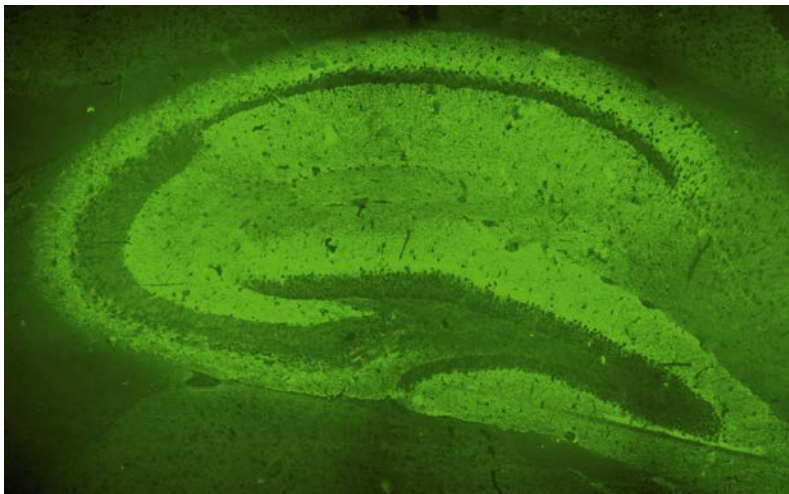
Autoantikörper gegen N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptoren. N-Methyl-D-Aspartat ist eine synthetische Aminosäure, die in der Natur normalerweise nicht vorkommt, aber für neurophysiologische Experimente eingesetzt wird. Strukturell stellen NMDA-Rezeptoren Heterodimere dar, bestehend aus den Untereinheiten NR1 und NR2. Siehe auch: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene.

Funktion und Pathophysiologie

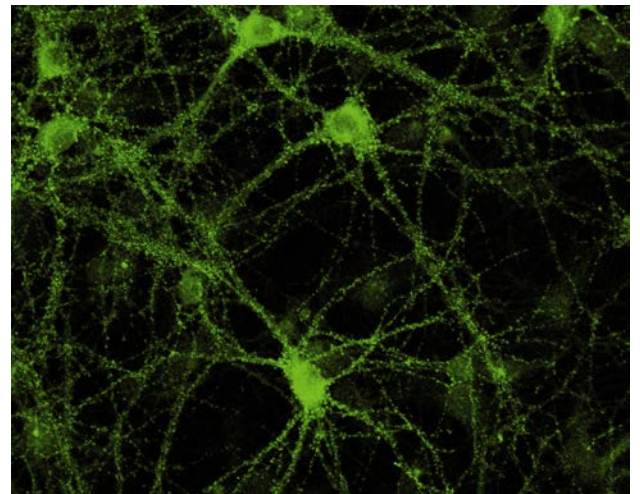
NMDA-Rezeptoren gehören zu den ionotropen Glutamatrezeptoren. Dies sind Ionenkanäle in der Zellmembran, die durch die Bindung ihres Liganden Glutamat aktiviert werden. In der postsynaptischen Membran lokalisiert, steuern sie den Ionenfluss an der nachgeschalteten Nervenzelle der Synapse, und zwar selektiv nach Art der Ionen. Der Kanal besitzt verschiedene Bindungsstellen für unterschiedliche Liganden, welche die Rezeptor-Funktion steuern. Neben der Bindungsstelle für den eigentlichen Botenstoff Glutamat (Agonist) und einer Bindungsstelle für den Co-Agonisten Glycin zeigt der NMDA-Rezeptor Bindungsstellen für weitere Stoffe, die die Aktivität beeinflussen – erhöhen (Agonisten, wie das NMDA) oder vermindern (Antagonisten, wie zum Beispiel Amantadin, Dextromethorphan oder Kynurensäure). Vermutlich ist die Funktion des NMDA-Rezeptors eines der wesentlichen Elemente für die Induktion der synaptischen Plastizität und stellt damit einen molekularen Mechanismus für Lernen und Gedächtnis dar.

Analytik

Autoantikörper gegen NMDA-Rezeptoren lassen sich mittels immunhistochemischer Nachweisverfahren bestimmen. Auf dem Substrat Hippocampus zeigt sich bei positiver Reaktion eine charakteristische Anfärbung der inneren Molekularschicht. Zum monospezifischen Nachweis dieser Autoantikörper eignet sich der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit transfizierten HEK-Zellen (Human Embryonic Kidney Cells) als Substrat. Neben dem IgG sollen auch die Immunglobulinklassen IgA und IgM untersucht werden.



**Abb. 25 Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren Typ NMDA.
Substrat Hippocampus (Maus).**



**Abb. 26 Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren Typ NMDA.
Substrat ex vivo kultivierte Mausneuronen aus dem Hippocampus.**

Untersuchungsmaterial

Serum oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Die Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist eine erstmals 2007 beschriebene Autoimmunerkrankung. Sie ist in einigen Fällen als ein paraneoplastisches Syndrom anzusehen und mit einem Teratom der Ovarien assoziiert (selten: der Testes; die Tumoren enthalten unter anderem neuronale Strukturen). Die Erkrankung beginnt oft mit einem grippeähnlichen Vorstadium, gefolgt von psychischen Symptomen wie Angst, Erregung, bizarrem Verhalten,

Wahn und Halluzinationen. Viele Patienten gelangen zunächst in psychiatrische Behandlung (und verbleiben dort, wenn sie nicht durch eine simple Antikörper-Untersuchung gerettet werden!). Erste Anzeichen sind oft epileptische Anfälle und Katatonie-ähnliche Bewusstseinsstörungen. Charakteristisch sind Autoantikörper gegen NMDA-Rezeptoren in Serum und Liquor. Bei einem positiven Befund sind die behandelnden Ärzte unbedingt darauf hinzuweisen, dass bei einigen der betroffenen Frauen die Ovarien von Tumoren befallen sind! Resektion des Tumors und immunsuppressive Therapie über mehrere Monate – akut: Methylprednisolon iv, Eskalation: Plasmapherese, Langzeit: Azathioprin plus Steroide, ggf. Rituximab. Positive Reaktionen in IgA und IgM wurden bisher bei Demenz, deliranten Syndromen (organischen Psychosyndromen) und peripheren Neuropathien beobachtet. Kognitive Defizite (Sklerose des Hippocampus) vermeiden und Rezidivrate reduzieren durch frühe und aggressive Therapie.

Es empfiehlt sich, zusätzlich die wichtigsten anderen Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene parallel zu untersuchen, was in vielen Fällen eine schnelle und sichere (ggf. unvermutete) lebenswichtige Diagnose zur Folge hat.

Literatur

1. Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, Rossi JE, Peng X, Lai M, Dessain SK, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Lynch DR (2008) Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurology* 7(12):1091-1098
2. Prüss H, Dalmau J, Harms L, Höltje M, Ahnert-Hilger G, Borowski K, Stoecker W, Wandinger KP (2010) Retrospective analysis of NMDA receptor antibodies in encephalitis of unknown origin. *Neurology* 75(19):1735-1739
3. Wandinger KP, Klingbeil C, Gneiss C, Waters P, Dalmau J, Saschenbrecker S, Borowski K, Deisenhammer F, Vincent A, Probst C, Stöcker W (2011) Neue serologische Marker zur Differentialdiagnose der Autoimmun-Enzephalitis. *J Lab Med* 35(6):329-342

Autoantikörper gegen Glycin-Rezeptoren

Synonym(e)

Anti-GlyR-Antikörper, Anti-GLRA-Antikörper, Anti-Glycin-Rezeptor-Antikörper

Englischer Begriff

Anti-GlyR antibodies, Anti-glycine receptor antibodies

Definition

Autoantikörper gegen einen transmembranen, postsynaptisch gelegenen Proteinkomplex. Im ZNS liegen Glycin-Rezeptoren konzentriert im Hirnstamm und im Rückenmark vor. Der native, funktionelle Rezeptor setzt sich aus 5 Untereinheiten ($3\alpha 2\beta$) zusammen, die ringförmig um den zentralen Ionenkanal angeordnet sind. Von den α -Untereinheiten sind 4 Isoformen bekannt, die untereinander austauschbar sind und die Neurotransmitter-bindende Einheit darstellen.

Funktion und Pathophysiologie

Glycin-Rezeptoren gehören zur Klasse der inhibitorischen Liganden-gesteuerten Ionenkanäle. Die Bindung des Neurotransmitters Glycin an den Rezeptor bewirkt einen Einstrom von Chlorid-Ionen in die Zelle und führt so zu einer Verminderung der zellulären Erregbarkeit. Der inhibitorische glycinerge Mechanismus unterdrückt die überschießende Aktivität von Neuronen und wird durch die Autoantikörper gegen Glycinrezeptoren gestört. Die daraus resultierende Symptomatik umfasst unter anderem Hyperekplexie, wie sie hereditär auch hervorgerufen wird durch Mutationen des Gens GLRA1, das die $\alpha 1$ -Untereinheit des Glycin-Rezeptors codiert.

Analytik

Die Bestimmung von Autoantikörper gegen Glycinrezeptoren ist mittels GLRA1b-transfizierter humaner Zellen im indirekten Immunfluoreszenztest möglich.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen Glycin-Rezeptoren wurden bei einigen Patienten mit erweitertem Stiff-Person-Syndrom (SPS-plus), der sogenannten progressiven Enzephalomyelitis mit Rigidity und Myoklonie (PERM), nachgewiesen. Einzelfälle zeigen jedoch, dass das mit Anti-GlyR-Antikörpern assoziierte klinische Bild über das der klassischen PERM-Erkrankung hinausgehen kann. Da es sich um eine äußerst seltene Erkrankung handelt, sind bisher erst wenige Fälle beschrieben. Die diagnostische Signifikanz des indirekten Immunfluoreszenztests ist bei diesem Parameter sehr hoch.

Literatur

1. Hutchinson M, Waters P, McHugh J, Gorman G, O'Riordan S, Connolly S, Hager H, Yu P, Becker C-M, Vincent A (2008) Progressive encephalomyelitis, rigidity, and myoclonus: A novel glycine receptor antibody. *Neurology* 2008; 71(16):1291-1292
2. Turner M, Irani S, Leite M, Nithi K, Vincent A, Ansorge O. Progressive encephalomyelitis with rigidity and myoclonus: Glycine and NMDA receptor antibodies. *Neurology* 2011;77(5):439
3. Piotrowicz A, Thümen A, Leite MI, Vincent A, Moser A (2011) A case of glycine-receptor-associated encephalomyelitis with rigidity and myoclonus (PERM): clinical course, treatment and CSF findings. *J Neurol* 258(12):2268-2270
4. Mas N, Saiz A, Leite MI, Waters P, Baron M, Castano D, Sabater L, Vincent A, Graus F (2011) Antiglycine-receptor encephalomyelitis with rigidity. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 82(12):1399-1401
5. Wandinger KP, Klingbeil C, Gneiss C, Waters P, Dalmau J, Saschenbrecker S, Borowski K, Deisenhammer F, Vincent A, Probst C, Stöcker W (2011) Neue serologische Marker zur Differentialdiagnose der Autoimmun-Enzephalitis. *J Lab Med* 35(6):329-342

Autoantikörper gegen Glycoprotein 210 (GP210)

Synonym(e)

Anti-GP210-Antikörper, Autoantikörper gegen das nukleäre Poren-Glykoprotein 210

Englischer Begriff

Autoantibodies to GP210

Definition

Das GP210 -Antigen ist ein Glykoprotein der Kernmembran und integraler Bestandteil des Kernporen-Komplexes. Das Proteingerüst setzt sich aus drei Domänen zusammen. Mindestens zwei davon enthalten Epitope, die mit den Autoantikörpern reagieren.

Funktion und Pathophysiologie

Bei einem Drittel der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) können mittels indirekter Immunfluoreszenz Autoantikörper gegen mehrere spezifische Zellkern-Antigene nachgewiesen werden, darunter Antikörper gegen Sp100, Proteine aus Krebszellen (Promyelocyten-Leukämie: PML), Antigene der Kernmembran (Lamine, Lamin-B-Rezeptoren), sowie Komponenten des Kernporenkomplexes (GP210, p62). Siehe PBC-assoziierte anti-nukleäre Autoantikörper.

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

In der Immunfluoreszenz reagieren Autoantikörper gegen GP210 mit der Membran der Zellkerne und stellen sich als eine lineare Fluoreszenz dar. Als Substrat dienen dabei HEp-2-Zellen und Gewebeschnitte der Primatenleber, wobei sich diese Antikörper bei den Hepatocyten deutlicher darstellen und sich auf der Leber leichter gegen gelegentlich zusätzlich vorliegende Zellkern-Antikörper mit homogenem Muster abgrenzen lassen. Die Serum-Ausgangsverdünnung ist 1:100. In ELISA- oder Westernblot-Systemen kommt beim Nachweis dieser Antikörper aus Zellkulturen isoliertes, ggf. rekombinantes GP210 zum Einsatz.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) und Overlap-Syndrom (Autoimmunhepatitis und PBC).

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen GP210 werden bei 26 % der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) gefunden, sie weisen auf einen besonders schweren Krankheitsverlauf hin. Diese Antikörper werden vereinzelt auch bei Autoimmunhepatitis oder Hepatitis B und C beobachtet.

Die gemeinsame Bestimmung der Autoantikörper gegen PML, SP100, GP210, AMA-M2 und M2-3E erhöht die diagnostische Sensitivität für PBC auf 94 % bei einer Spezifität von 99 % und dient der Abgrenzung gegenüber anderen autoimmunen Lebererkrankungen.

Literatur

1. Courvalin J-C, K Lassoued, E Bartnik, G Blobel, Wozniak RW (1990) The 210-kD nuclear envelope polypeptide recognized by human autoantibodies in primary biliary cirrhosis is the major glycoprotein of the nuclear pore. Clin Invest 86(1):279-285
2. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E (1996) Anti-gp210 antibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. Identification of a 64 kD fragment of gp210 as a major epitope. Hum.Antibodies Hybridomas. 7(4):167-174
3. Szosteki C, Guldner HH, Will H (1997) Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. Semin.Liver Dis. 17(1):71-78
4. Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wesierska-Gadek J (2005) Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. Semin.Liver Dis 25(3):298-310

Autoantikörper gegen β 2-Glykoprotein I

Synonym(e)

β 2-Glykoprotein I-Antikörper, anti- β 2-GPI, anti- β 2-GP1

Englischer Begriff

Antibodies to β 2-glycoprotein I

Definition

β 2-Glykoprotein I (β 2GP1) ist ein Phospholipid-bindendes Plasmaprotein. Im Zusammenhang mit Autoimmunreaktionen fungiert es als Kofaktor der Antikörperbindung an das Phospholipid Cardiolipin.

Funktion und Pathophysiologie

siehe Autoantikörper gegen Phospholipide

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen β 2GP1 lassen sich zuverlässig nur in solchen ELISA-Systemen nachweisen, bei denen β 2GP1 als alleiniges Antigen eingesetzt wird. Das Antigen β 2GP1 ist auch als Kofaktor in Anti-Cardiolipin-ELISA enthalten, diese eignen sich aber nicht als Screening-Methode für den parallelen Nachweis der Autoantikörper gegen Cardiolipin (ACA) und gegen β 2GP1. Wahrscheinlich führt die strukturelle Modifizierung des β 2GPI durch die Bindung an Cardiolipin zum Verlust von Epitopen, die von einer Subpopulation der Autoantikörper gegen β 2GP1 erkannt werden.

Zur serologischen Diagnostik des Anti-Phospholipid-Syndroms (APS) empfiehlt sich zunächst der Nachweis der Antikörper gegen Cardiolipin (IgG und IgM; IgA ist weniger aussagekräftig) sowie des Lupus Antikoagulans (LA). Die Bestimmung dieser Antikörper muss nach 3-6 Wochen wiederholt werden, da erst ein zweimaliger positiver Befund die serologischen APS-Kriterien erfüllt. Bei negativem Cardiolipin-Antikörper-Befund sollten Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM gegen β 2GP1 untersucht werden. Diese treten bei APS mit hoher Prävalenz (60-90 %) sowie unabhängig von ACA und LA auf. Durch die parallele Untersuchung von ACA und Anti- β 2GP1-Antikörpern lässt sich die serologische Trefferquote auf nahezu 100 % steigern. (Siehe auch Autoantikörper gegen Phospholipide)

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Anti-Phospholipid-Syndrom

Diagnostische Wertigkeit

Die klinischen Komplikationen, die mit dem Vorkommen von Autoantikörpern gegen Phospholipide und gegen β 2GPI assoziiert sind, hat man unter dem Begriff Anti-Phospholipid-Syndrom (APS) zusammengefasst. Antikörper gegen β 2GPI treten mit hoher Prävalenz (60-90 %) bei Patienten auf, die an Symptomen des APS leiden. Antikörper gegen β 2GPI werden auch bei Anti-Cardiolipin-negativen APS-Patienten gefunden, und umgekehrt. Die parallele Bestimmung beider Parameter erhöht also die serologische Trefferquote für diese Erkrankung. Ihre Präsenz (persistierend über 3-6 Wochen) kann als Beweis für das Vorliegen eines APS angesehen werden, was allerdings die Kriterienliste zur APS-Diagnose gemäß dem Sapporro Consensus Workshop 1999 (Wilson et al. 1999, Arthritis Rheum. 42: 1309) noch nicht berücksichtigt. Von den Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (SLE) weisen 15-30 % Antikörper gegen β 2GPI auf, insbesondere wenn bereits typische APS-Symptome vorliegen. Antikörper gegen β 2GPI gelten als spezifischer für den Nachweis des APS als ACA, die auch bei bestimmten Infektionen (z. B. Syphilis, Borreliose, AIDS, Hepatitis, Tuberkulose) nachgewiesen werden können. (Siehe auch Autoantikörper gegen Phospholipide)

Literatur

1. Levine JS, Branch DW, Rauch J (2002) The Antiphospholipid Syndrome. N Engl J Med 346(10):752-763
2. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA (1990) Anti-phospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation: beta 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). Proc Natl Acad Sci USA 87(11):4120-4124
3. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T (1999) International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Arthritis Rheum. 42(7):1309-1311

Autoantikörper gegen Golgi-Apparat-Antigene

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Antigene des Golgi-Apparates, Anti-Golgi-Apparat-Antikörper

Englischer Begriff

Anti-Golgi antibodies, autoantibodies against the Golgi apparatus, Golgi apparatus antibodies

Definition

Autoantikörper, die sich gegen Antigene des Golgi-Apparates im Cytoplasma richten. Der Golgi-Komplex beinhaltet folgende antigene Determinanten:

Autoantigen	Molekularmasse (kDa)
Giantin/Makrogolgin	376-364
Golgin-245	245
Golgin-160	160
Golgin-97	97
Golgin 95/gm130	130
Golgin-67	67

Analytik

Autoantikörper gegen den Golgi-Apparat stellen sich in der indirekten Immunfluoreszenz auf HEP-2-Zellen als netzig-granuläre Strukturen dar, die dem Zellkern einseitig anliegen. Das Cytoplasma der Hepatocyten ist ebenfalls angefärbt. Bei HEP-2-Zellen, die sich in Mitose befinden, ist der Golgi-Apparat weitestgehend aufgelöst. Die Antikörper zeigen dort keine Reaktion. Die Ausgangsverdünnung für das Serum ist 1:100.

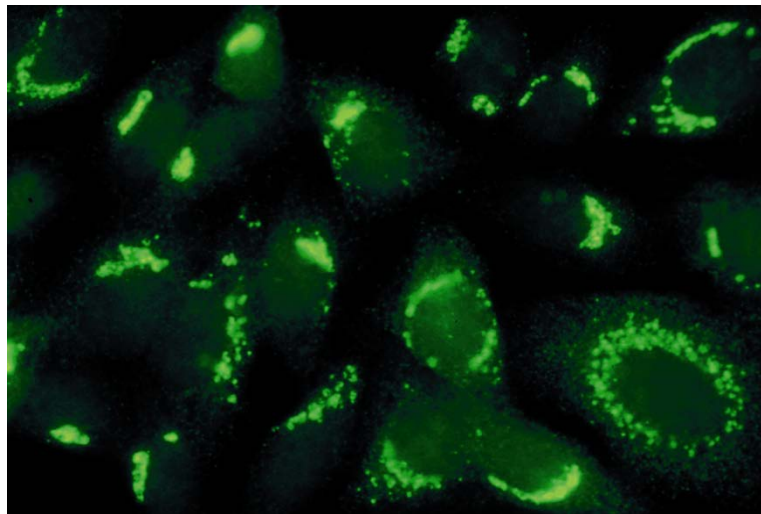


Abb. 27 Autoantikörper gegen Golgi-Apparat-Antigene.
Substrat HEP-2-Zellen.

Referenzbereich

Negativ

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Serumproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Diagnostische Relevanz

Autoantikörper gegen die Antigene des Golgi-Apparates treten bei verschiedenen Autoimmunerkrankungen auf, insbesondere bei systemischem Lupus erythematodes und Sjögren-Syndrom. Wegen der geringen Krankheitsspezifität hat der Nachweis keine große diagnostische Bedeutung.

Literatur

Stinton LM, Eystathioy T, Selak S, Chan EK, Fritzler MJ (2004) Autoantibodies to protein transport and messenger RNA processing pathways: endosomes, lysosomes, Golgi complex, proteasomes, assemblyosomes, exosomes, and GW bodies. *Clinical Immunology* 110(1):30-44

Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (ANCA, cANCA, pANCA)

Synonym(e)

ANCA

Englischer Begriff

Antineutrophil cytoplasmic antibodies

Definition

Autoantikörper gegen Cytoplasmabestandteile der neutrophilen Granulocyten. Entsprechend dem mikroskopischen Bild, das sich im indirekten Immunfluoreszenztest ergibt, unterscheidet man zwei Typen: cANCA (cytoplasmatischer Typ) und pANCA (perinukleärer Typ). Hauptzielantigen der cANCA ist die Proteinase 3, daneben reagieren Autoantikörper gegen BPI und manchmal auch gegen Myeloperoxidase (MPO) mit diesem Bild. Das pANCA-Muster zeigen Autoantikörper gegen Myeloperoxidase, Elastase, Kathepsin G, Laktoferrin, Lysozym, β -Glucuronidase, Azurocidin, LAMP-2, α -Enolase und Defensin.

Pathophysiologie

Die pathogenetische Rolle der ANCA ist bis heute nicht abschließend geklärt.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Analytik

Die Diagnostik der Autoantikörper gegen neutrophile Granulocyten (ANCA) stützt sich primär auf den indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT, mit unfixierten oder auf verschiedene Weise fixierten Granulocyten oder immortalisierten Leukämiezellen, sowie mit Antigendots als Substraten), sie wird durch monospezifische ELISA und Immunblots sinnvoll ergänzt. Standardsubstrate für die Immunfluoreszenz sind Ethanol- und Formaldehyd-fixierte humane Granulocyten. Es lassen sich mindestens zwei Fluoreszenzmuster unterscheiden: eine körnige Fluoreszenz, die sich im Wesentlichen gleichmäßig über das gesamte Cytoplasma der Granulocyten verteilt und die Zellkerne freilässt (cANCA: cytoplasmatisches Muster, Wegener'sche Granulomatose), und eine vorwiegend glatte, z. T. auch feinkörnige Fluoreszenz, die sich bandförmig um die Zellkerne der Granulocyten windet (pANCA: perinukleäres Muster).

Das cANCA-Muster wird im Wesentlichen durch Antikörper gegen Proteinase 3 verursacht. Ethanol- und Formaldehyd-fixierte Granulocyten reagieren mit Antikörpern gegen Proteinase 3 in gleicher Weise. Das perinukleäre Fluoreszenzmuster der pANCA entsteht dadurch, dass die Antigene während der Inkubation mit dem Patientenserum aus den Granula an die Kernmembran diffundieren, zu der sie eine hohe Affinität besitzen. Diese reagieren, mit Ausnahme von Anti-Myeloperoxidase, in der Regel nur auf Ethanol-fixierten Granulocyten mit dem beschriebenen pANCA-Muster. Bei Antikörpern gegen MPO, dem Hauptzielantigen der pANCA, ist jedoch auch eine deutlich körnige Fluoreszenz im Cytoplasma der Formaldehyd-fixierten Granulocyten festzustellen, da das Antigen durch das Formalin an die Granula fixiert wird und nicht zur Kernmembran diffundieren kann. Die mit Colitis ulcerosa und Primär-sklerosierender Cholangiitis assoziierten pANCA reagieren dagegen zumeist nicht mit Formalin-fixierten Granulocyten, sondern nur mit Ethanol-fixierten Granulocyten, das entsprechende Zielantigen ist in der Regel an DNS gebundenes Laktoferrin. Spezielle durch hohe Salzkonzentrationen depletierte und selektiv mit Laktoferrin beaufschlagte Granulocyten-Substrate reagieren spezifisch mit den Seren von Patienten mit Colitis ulcerosa und mit Primär-sklerosierender Cholangiitis, was sich diagnostisch nutzen lässt.

Die indirekte Immunfluoreszenz ist ein Globaltest, der im Prinzip sämtliche Autoantikörper gegen Granulocyten erfasst – wenn sie in ausreichender Konzentration vorliegen: Zur Sicherheit werden parallel einige (empfindlichere) ELISA zur Bestimmung der Anti-PR3- und der Anti-MPO-Antikörper eingesetzt. Während cANCA durch die indirekte Immunfluoreszenz unmittelbar identifiziert werden können, lassen sich pANCA am Mikroskop nicht exakt differenzieren. Um herauszufinden, gegen welches dieser einzelnen Antigene die pANCA gerichtet sind, verwendet man Testsubstrate mit definierten Einzelantigenen. Gelegentlich findet man mit der Immunfluoreszenz pANCA, die aber mit keinem der aufgezählten Antigene reagieren: Offensichtlich sind noch nicht alle relevanten Antigen-Antikörper-Systeme entdeckt.

Zur Abgrenzung von Autoantikörpern gegen Zellkerne (ANA) werden zusätzlich die Substrate HEp-2-Zellen und Primatenleber angesetzt. Auf der Primatenleber findet man die Zellkerne der Hepatocyten und die in den Sinusoiden enthaltenen Granulocyten im selben Blickfeld und man kann oft sogar erkennen, ob ANA und pANCA gleichzeitig im selben Serum vorliegen: Die Granulocyten fluoreszieren dann deutlich heller als die Hepatocyten-Kerne. Es gibt auch Substrate aus HEp-2-Zellen, die mit Granulocyten überschichtet wurden, sodass sich der gleiche Effekt ergibt: Mikroskopische Beurteilung der Autoantikörper gegen Zellkerne und gegen Granulocyten im selben Blickfeld.

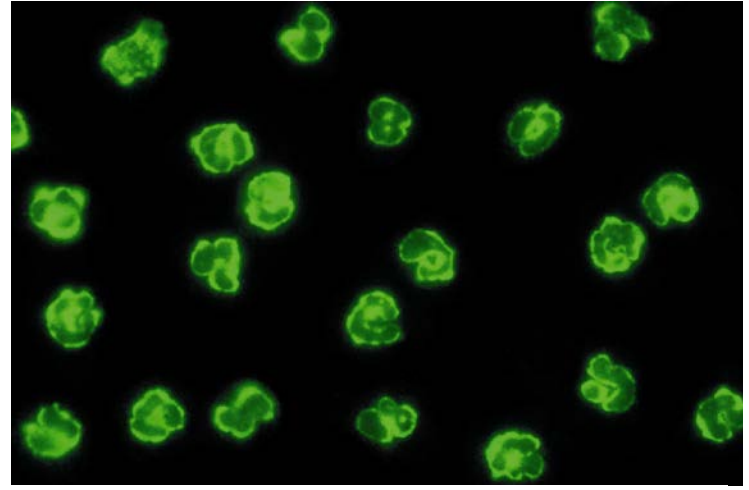
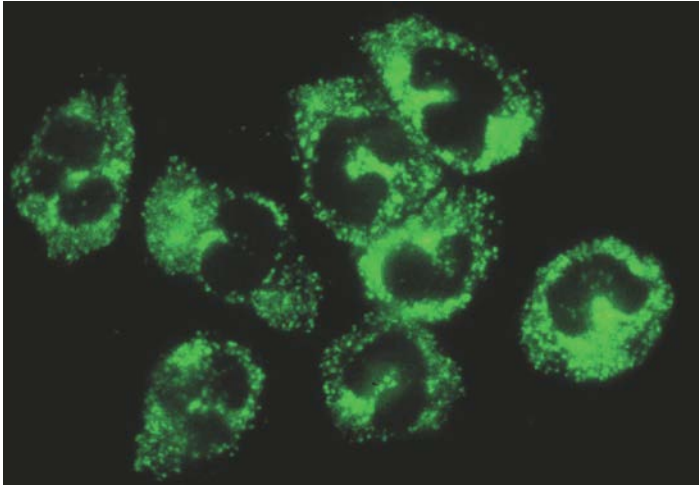


Abb. 28 Autoantikörper gegen Granulocyt-Cytoplasma (Muster cANCA). Substrat humane Granulocyten (Ethanol-fixiert).

Abb. 29 Autoantikörper gegen Granulocyt-Cytoplasma (Muster pANCA). Substrat humane Granulocyten (Ethanol-fixiert).

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

Die cANCA weisen eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Wegener'sche Granulomatose auf (Prävalenz 80 %), die Titerhöhe korreliert mit der Krankheitsaktivität. Die Sensitivität der indirekten Immunfluoreszenz wird inzwischen durch moderne Anti-PR3-ELISA-Systeme übertroffen (95 %), die Kombinationen aus nativen und rekombinanten Antigen substraten einsetzen. cANCA können in seltenen Fällen aber auch bei Mikroskopischer Arteriitis und Polyarteriitis nodosa nachgewiesen werden. Das Hauptantigen der cANCA ist die Proteinase 3, das Vorkommen weiterer Zielantigene (z. B. bactericidal permeability increasing protein, BPI) wird diskutiert.

pANCA, die durch Antikörper gegen Myeloperoxidase induziert werden, sind hauptsächlich mit mikroskopischer Polyangiitis (Prävalenz ca. 60 %) und pauci-immuner nekrotisierender Glomerulonephritis (Prävalenz 65-90 %) assoziiert. Daneben treten Autoantikörper gegen Myeloperoxidase bei klassischer Polyarteriitis nodosa und Churg-Strauss-Syndrom auf. Sehr selten kommen MPO-ANCA bei systemischem Lupus erythematoses und rheumatoider Arthritis vor.

Der Tendenz, Erkrankungen wie die Wegener'sche Granulomatose und die Mikroskopische Polyangiitis zu „ANCA-assoziierten Vaskulitiden“ zusammenzufassen sowie diagnostisch nicht mehr zwischen Autoantikörpern gegen Proteinase 3 oder gegen Myeloperoxidase zu differenzieren, sollte man nicht folgen, bis die Pathogenese dieser Erkrankungen vollends aufgeklärt ist.

Eine wichtige Rolle spielt der Nachweis der pANCA (IgA und IgG, Antigen formalinsensibel), bei der serologischen Diagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen Colitis ulcerosa (67 %) und Morbus Crohn (7 %). Mit Laktoferrin angereicherte Granulocyten reagierten bei CU in 72 % (M. Crohn 3 %, PSC 42 %, gesunde Blutspender 0 %). Für die Kombination der beiden unterschiedlichen Substrate ergab sich eine Sensitivität von 87 % (UC) und 54 % (PSC).

Literatur

1. Van der Woude FJ et al. (1985) Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and a marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1(8426):425-429
2. Gross WL (1995) Antineutrophil cytoplasmic autoantibody testing in vasculitides. *Rheum Dis Clin North Am* 21(4):987-1011
3. Damoiseaux J, Buschtez M, Steller U, Zerbe B, Rosemann A, Fechner K, Schlumberger W, Cohen Tervaert JW, Stöcker W (2007) EUROPLUSTM ANCA BIOCHIP Mosaic: MPO and PR3 antigen dots improve the detection of ANCA by indirect immunofluorescence. In: Conrad K et al. (Hrsg.) *From Etiopathogenesis to the Prediction of Autoimmune Diseases: Relevance of Autoantibodies*. Pabst Science Publishers 5:485-486
4. Damoiseaux J, Dährnich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Stegeman CA, Egerer K, Hiepe F, Paasens PV, Stöcker W, Schlumberger W, Tervaert JWC (2009) A novel ELISA using a mixture of human native and recombinant proteinase-3 significantly improves the diagnostic potential for ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* Feb;68(2):228-233

5. Komorowski L, Teegen B, Probst C, Schlumberger W, Stöcker W (2009) ELISA for the detection of autoantibodies against DNA-bound lactoferrin in ulcerative colitis. In: Conrad K et al. (Hrsg.) From Pathogenesis to the Therapy of Autoimmune Diseases. Pabst Science Publishers:474-475

Autoantikörper gegen Granulocytenmembran

Synonym(e)

Anti-GMA (Granulocytenmembran-Antigen)

Englischer Begriff

Granulocyte antibodies, anti-human neutrophil alloantigens

Definition

Antikörper gegen Proteine der Membran von Granulocyten. Nicht zu verwechseln mit ANCA (Anti-Neutrophile *cytoplasmatische* Antikörper, Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma)

Pathophysiologie

GMA gehören zu den Blutgruppenantigenen und werden kodominant vererbt. Im wesentlichen werden 5 Antigen-systeme (HNA1-5) unterschieden, von denen jeweils eine bis drei verschiedene Ausprägungen bekannt sind. Ein Teil der Antigene ist auf dem Fc-Rezeptor der Granulocyten lokalisiert.

Klinisch sind GMA-Inkompatibilitäten hauptsächlich bei der neonatalen Immungranulocytopenie von Bedeutung, in diesem Fall werden die Antikörper von der Mutter diaplazentar übertragen. Weiterhin sind sie verantwortlich für schwere pulmonale Transfusionsreaktionen (TRALI-Syndrom, *transfusion associated lung injury*). Dabei aktivieren GMA eines Blutspenders alveoläre Granulocyten des Patienten und verursachen ein Lungenödem.

Untersuchungsmaterial

Serum

Analytik

GIFT (Granulocyten-Immunfluoreszenztest) mit Granulocytenausstrichen oder im Flow-Cytometer: Suchtest
MAIGA (*monoclonal antibody immobilisation of granulocyte antigens*)-Test: antigenspezifischer Test bei positiven GIFT-Resultaten

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

Positive Testergebnisse in Verbindung mit der entsprechenden Klinik sind wegweisend für die Diagnose. Negative Ergebnisse schließen insbesondere das Vorliegen eines TRALI-Syndroms nicht aus!

Literatur

Stroncek D (2002) Neutrophil alloantigens. *Transfus Med Rev* 16(1):67-75

Autoantikörper gegen Herz-spezifische Antigene

Synonym(e)

Herzmuskel-Autoantikörper, HMA, Anti- β -Rezeptoren-Antikörper

Englischer Begriff

Anti-heart muscle antibodies, organspecific cardiac autoantibodies

Definition

Autoantikörper, die spezifisch mit Antigenen der Herzmuskulatur reagieren

Funktion und Pathophysiologie

Bei dilatativer Cardiomyopathie, Myocarditis, schwerer Angina pectoris oder Zustand nach Herzinfarkt, Cardiotomie und traumatischen, das Herz betreffenden Ereignissen führen Antigene des zerstörten Gewebes zu einer physiologischen Immunisierung des Organismus. Es gibt klinische Hinweise darauf, dass dann Autoimmunreaktionen eine Entzündung des Herzmuskels hervorrufen können: So hat zum Beispiel Dressler 1956 in der Spätphase nach Herzinfarkten schwere Entzündungsreaktionen beobachtet (Dressler-Syndrom), oder einige Patienten entwickeln nach Operationen am Herzen eine ähnliche Symptomatik, die als Postcardiotomie-Syndrom bekannt ist.

Es ist damit zu rechnen, dass man im Serum solcher Patienten auch Autoantikörper nachweisen kann, die sich gegen Bestandteile des Herzmuskels und andere Herz-spezifische Strukturen (Perikard, Endocard, Reizleitungsgewebe, Herzklappen) richten. Als Ziele der Herzmuskel-Antikörper kommen vor allem solche Antigene in Frage, die nicht in anderen Organen exprimiert werden (die gesunden Organe regeln vermutlich Autoimmunreaktionen ab), sondern ausschließlich oder vorwiegend im Herzen, etwa Herz-spezifisches Troponin-1 und Troponin-T, α -Hydroxybuttersäuredehydrogenase, die Variante CK-MB der Kreatinkinase, atriales α -Myosin, ventrikuläres β -Myosin (Antigengemeinschaft mit Skelettmuskel). Weitere Kandidaten wären Antigene der Glanzstreifen und cardiomyolemale Proteine.

Sporadisch werden Antikörper gegen Reizleitungsgewebe untersucht. Sie sollen mit Störungen der Erregungsleitung assoziiert sein. In gleicher Weise wirken sich nach neuesten Erkenntnissen Antikörper gegen Ro/SS-A aus dem Blut von Schwangeren mit systemischem Lupus erythematoses aus, die bei Feten und Neugeborenen eine Bradycardie bis zum congenitalen Herzblock verursachen (es handelt sich in diesem Falle nicht um "Herzmuskel-Antikörper"): Es wurde gezeigt, dass diese Antikörper mit Proteinen der Calciumkanäle des Reizleitungsgewebes reagieren und dadurch die Erregungsleitung verlangsamen. Auch bei Erwachsenen mit Antikörpern gegen SS-A findet man eine Verlängerung des QT-Intervalls im EKG als Ausdruck einer Verzögerung der Reizleitung.

Auf der Suche nach einem relevanten Autoimmunmechanismus, der mit der Pathogenese von Formen der Myocarditis und der dilatativen Cardiomyopathie in Zusammenhang stehen könnte, sind vor allem β -adrenerge und muskarinische Rezeptoren in Betracht zu ziehen. Hierfür gab es allerdings lange vorwiegend nur tierexperimentelle Belege (Jahns et al. 1994). Ob Autoantikörper gegen diese Rezeptoren einen Beitrag zur Pathogenese leisten, ähnlich wie Antikörper gegen TSH-Rezeptoren bei Morbus Basedow oder Antikörper gegen Acetylcholin-Rezeptoren bei Myasthenia gravis, und ihr Auftreten im Blut diagnostisch genutzt werden kann, ist noch nicht allgemein akzeptiert.

Autoimmunreaktionen gegen das Herz können heute allenfalls durch eine direkte Untersuchung biopsierten Gewebes objektiviert werden, die häufig veranlassten serologischen Analysen sind in den meisten Fällen Ausdruck einer ungerechtfertigten Erwartungshaltung.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest werden als Substrat Gefrierschnitte von Primatenherz eingesetzt. Die Ausgangsverdünnung ist 1:100, untersucht werden Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM mit einem trivalenten Antiserum. Zur Überprüfung der Funktionsfähigkeit des Testsystems wird als Positivkontrolle das Serum eines Patienten mit Myasthenia gravis verwendet, das auf dem Herzgewebe eine typische Querstreifung zeigt. Zum Nachweis von Antikörpern gegen Herz-spezifische β -adrenerge Rezeptoren wurde ein ELISA beschrieben, der auf synthetischen Peptid-Analogen von Teilstücken der β -1- und β -2-Rezeptoren basiert. Parallel dazu wurden auch mit Gensequenzen von β -Rezeptoren transfizierte Insektenzellen als Substrate für die indirekte Immunfluoreszenz eingesetzt.

Indikation

Bis heute hat aufgrund unzureichender Signifikanz eine breite Diagnostik der Antikörper gegen Herzmuskel keine Berechtigung.

Diagnostische Wertigkeit

Man findet Antikörper gegen die Querstreifung, aber in erster Linie nur in Zusammenhang mit der Myasthenia gravis. Antikörpern gegen Glanzstreifen, so sie sich durch indirekte Immunfluoreszenz nachweisen lassen, kann man ihre Herzspezifität nicht absprechen, aber sie lassen eine Krankheitsspezifität vermissen, sie werden auch bei gesunden Blutspendern beobachtet.

Antikörper gegen stimulierende adrenerge β -1-Rezeptoren wurden bei 26 % der Patienten mit dilatativer Cardiomyopathie nachgewiesen (ischämische Cardiomyopathie: 13 %). Es ist zu bezweifeln, dass sich die Bestimmung dieses Parameters bei so niedriger Spezifität allgemein durchsetzen wird.

Literatur

1. Jahns R, Boivin V, Hein L, Triebel S, Angermann CE, Ertl G, Lohse MJ (2004) Direct evidence for a beta 1-adrenergic receptor-directed autoimmune attack as a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* 113(10):1419-1429
2. Störk S, Boivin V, Horf R, Hein L, Lohse MJ, Angermann CE, Jahns R (2006) Stimulating autoantibodies directed against the cardiac beta-1-adrenergic receptor predict increased mortality in idiopathic cardiomyopathy. *Am Heart J* 152(4):697-704

Autoantikörper gegen Histone

Synonym(e)

Histon-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against histones, anti histone antibodies

Definition

Histone sind basische, DNS-assoziierte Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 11,2 und 21,5 kDa. Man unterscheidet fünf verschiedene Histonfraktionen: H1, H2A, H2B, H3 und H4. Autoantikörper können gegen jede der fünf Fraktionen gerichtet sein.

Funktion und Pathophysiologie

Histone sind basische Kernproteine mit einer hohen Affinität zur DNS.

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

In der indirekten Immunfluoreszenz zeigen HEp-2-Zellen bei Anwesenheit von Antikörpern gegen Histone eine homogene Fluoreszenz der Zellkerne. Die kondensierten Chromosomen der mitotischen Zellen sind betont. Auf der Primatenleber ist eine homogene, zum Teil aber auch eine grob- bis feinschollige Fluoreszenz der Zellkerne zu beobachten. Die Kinetoplasten des Flagellaten *Crithidia luciliae* werden durch Antikörper gegen Histone nicht angefärbt.

Bei positivem Resultat in der IIFT können monospezifische Testsysteme (ELISA, Immunblot), die hochgereinigte Histone als Testantigene enthalten, zur genaueren Identifizierung verwendet werden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Antikörper gegen eine oder mehrere Histonfraktionen oder gegen den H2A-H2B-Komplex weisen auf medikamentös (Procainamid, Hydralazin und andere) induzierten Lupus erythematodes hin.

Darüber hinaus kommen Autoantikörper gegen Histone bei ca. 50 % der Patienten mit nicht-medikamentös induziertem Lupus erythematodes sowie bei 15-50 % der Patienten mit rheumatoider Arthritis vor.

Interpretation

Etwa 50-75% der mit Procainamid und etwa 25-30 % der mit Hydralazin behandelten Patienten entwickeln bei Dauertherapie antinukleäre Antikörper, anfangs ohne Symptome eines Lupus erythematodes – bei einem Drittel dieser Patienten richten sich die Antikörper auch gegen Histone. Nach unterschiedlich langer Therapie zeigen die Patienten dann klinische Zeichen eines medikamentös induzierten Lupus erythematodes: Polyarthralgie, Pleuritis, Pericarditis. Die antinukleären Antikörper können nach Absetzen der Medikamente und dem Verschwinden der klinischen Symptome jahrelang persistieren.

Diagnostische Wertigkeit

Antikörper gegen eine oder mehrere Histonfraktionen oder gegen den H2A-H2B-Komplex sind ein konstanter Befund bei medikamentös (Procainamid, Hydralazin und andere) induziertem Lupus erythematodes.

Literatur

Bernstein RM, Hobbs RN, Lea DJ, Ward DJ, Hughes GR (1985) Patterns of antihistone antibody specificity in systemic rheumatic disease. I Systemic lupus erythematosus, mixed connective tissue disease, primary sicca syndrome, and rheumatoid arthritis with vasculitis. *Arthr Rheum* 28(3):285-293

Autoantikörper gegen Hu

Synonym(e)

Anti-Hu, ANNA-1, Autoantikörper gegen Zellkerne neuronaler Zellen Typ 1

Englischer Begriff

Anti-Hu autoantibodies, anti-neuronal nuclear antibodies 1 (ANNA 1)

Definition

Autoantikörper gegen Hu-Proteine neuronaler Zellkerne bei paraneoplastischer Enzephalitis. Bezeichnung abgeleitet vom Indexpatienten mit dem Namen Hull.

Funktion und Pathophysiologie

Hu-Proteine werden sowohl in peripheren und zentralen Neuronen exprimiert, als auch, bei Antikörper-positiven Patienten, in Tumorgewebe.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Zum Nachweis von Autoantikörpern gegen Neuronenkerne (ANNA-1 bis -3: gerichtet gegen Hu, Ri und PP = Purkinjezell- und Podocytenkerne) eignet sich der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gefrierschnitten von Primatenkleinhirn. Die Autoantikörper gegen Hu haben oft hohe Titer, zuweilen bis 1:100.000. Zur Abgrenzung der Autoantikörper gegen Hu von Autoantikörpern gegen Ri werden zusätzlich Gefrierschnitte von Primatendarm eingesetzt: Anti-Hu reagieren mit den Zellkernen des Plexus myentericus, Anti-Ri dagegen nicht. Bei einem positiven Anti-Hu-Resultat im IIFT kann zur Absicherung des Befundes ein Westernblot mit Kleinhirn-Antigenen oder ein Linienblot mit aufgereinigten definierten, gegebenenfalls rekombinanten Antigenen eingesetzt werden.

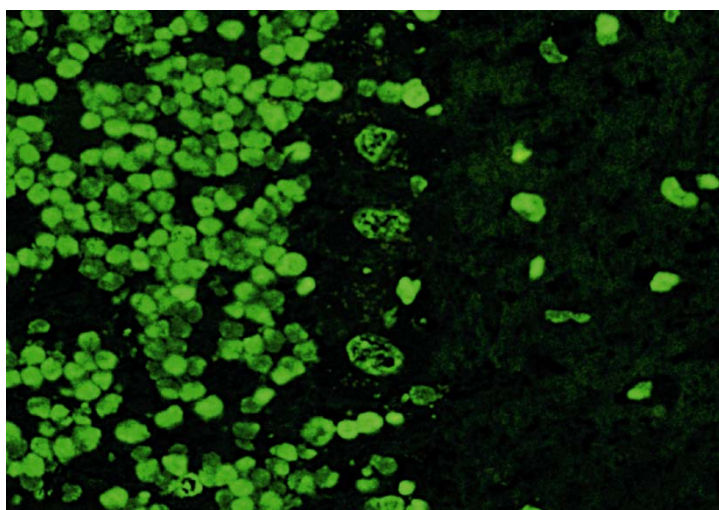


Abb. 30 Autoantikörper gegen Hu.
Substrat Primatenkleinhirn.

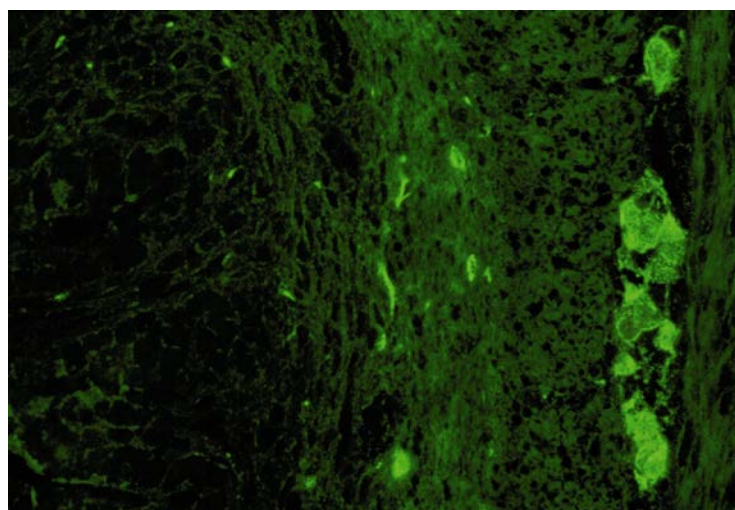


Abb. 31 Autoantikörper gegen Hu.
Substrat Primatendarm.

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Hu-Antikörper können den ersten Hinweis auf einen zugrundeliegenden Tumor geben (siehe Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene).

Antikörper gegen Hu sollten bei allen Patienten mit ungeklärten Neuropathien untersucht werden, insbesondere bei sensiblen Neuronopathien und bei Enzephalitiden mit Schwerpunkt in Hirnstamm, Kleinhirn und limbischem System (wegen der Differentialdiagnostik siehe auch: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene). Die häufigsten mit Hu-Antikörpern assoziierten Tumore sind: Kleinzelliges Lungenkarzinom (SCLC), Neuroblastom, Prostatakarzinom.

Literatur

Voltz R (2002) Paraneoplastische neurologische Autoimmunerkrankungen. Nervenarzt 73(10): 909-929

Autoantikörper gegen IA2

Synonym(e)

Autoantikörper gegen IA2 (Insulinoma-assoziiertes Antigen 2), IA2-Antikörper, IA2A

Englischer Begriff

IA2 (ICA512) autoantibodies

Definition

IA2 ist eine enzymatisch inaktive Protein-Tyrosin-Phosphatase, die in den β -Zellen der Langerhans-Inseln und neuroendocrinen Geweben exprimiert wird und an der Regulation der Insulinsekretion beteiligt ist.

Der Nachweis der Autoantikörper gegen IA2 dient der Diagnostik des Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (IDDM).

Funktion und Pathophysiologie

Im Zuge der Autoimmunreaktion kommt es bei einem Insulin-abhängigen Diabetes mellitus sehr früh zur Bildung von Autoantikörpern gegen verschiedene Inselzell-Antigene, deren Bestimmung für die Diagnose des Typ-1-Diabetes und dessen Prädiktion bei Verwandten ersten Grades von Diabetikern Bedeutung erlangt hat: Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD), Tyrosin-Phosphatase (insulinoma associated antigen IA2), gegen den Zinktransporter ZnT8, weitere cytoplasmatische Inselzellbestandteile und Insulin. Einer oder mehrere dieser Autoantikörper gegen GAD, IA2, ZnT8, cytoplasmatische Inselzellantigene (ICA) und Insulin sind bei fast allen Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose des Typ-1-Diabetes nachweisbar.

Autoantikörper gegen IA2 sind gegen Epitope der cytoplasmatischen C-terminalen Domäne des IA2 gerichtet. Das Inselzell-Antigen ICA512 sowie das nach tryptischer Behandlung von Immunpräzipitaten erhaltene 40-kDa-Inselzell-Antigen sind Fragmente von IA2. Die mit IA2 verwandten Inselzell-Antigene IA2 β (Maus) oder Phogrin (Ratte, Mensch), deren intracytoplasmatische Domänen zu 74 % mit IA2 identisch sind, besitzen sowohl mit IA2 kreuzreagierende als auch eigenständige Epitope.

Das Auftreten der Autoantikörper gegen IA2 ist mit einer relativ schnellen Manifestation der Insulinpflichtigkeit assoziiert.

Analytik

Autoantikörper gegen IA2 lassen sich durch Radioimmuntests und Enzymimmuntests bestimmen. Ein speziell konfigurierter ELISA, bei dem die IA2-Antikörper zwischen Festphase-immobilisiertem und markiertem IA2 der flüssigen Phase umfassen werden, zeigt eine zu den gegenwärtig verwendeten radioaktiven Methoden vergleichbare Sensitivität und Spezifität. Der ELISA ist gut reproduzierbar, einfach durchzuführen und somit geeignet zur Untersuchung großer und kleiner Probenreihen in der Routineanalytik.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen IA2 werden bei 50-80 % der neu diagnostizierten Typ-1-Diabetiker gefunden.

Bei Nichtdiabetikern haben sie einen hohen prädiktiven Wert bezüglich des individuellen Risikos, an einem Typ-1-Diabetes zu erkranken: Meistens sind die Antikörper schon vor der Manifestation der Erkrankung positiv und gelten als Marker der sogenannten prädiabetischen Phase. Um ein mögliches Diabetesrisiko im individuellen Fall gut abschätzen zu können, sollte eine Kombination aller Diabetes-mellitus-relevanten Autoantikörper (gegen GAD, IA2, ZnT8, Insulin und Pankreas-Inseln) getestet werden. Ist einer der Parameter positiv, kann man versuchen, den Ausbruch eines Diabetes mellitus durch geeignete Maßnahmen zu verhindern: Immunsuppression oder Diabetiker-Diät über mehrere Jahre (unbeschäftigte Pankreas-Inseln exponieren weniger Autoantigene).

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln

Literatur

1. Lan MS, Wasserfall C, MacLaren NK, Notkin AL (1996) IA-2, a transmembrane protein of the protein tyrosine phosphatase family, is a major autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus. Proc Natl Acad Sci 93(13):6367-6370
2. Pozzilli P, Manfrini S, Monetini L (2001) Biochemical markers of type 1 diabetes: clinical use. Scand J Clin Lab Invest 235:38-44

Autoantikörper gegen IgA

Synonym(e)

Autoantikörper gegen IgA, Anti-IgA

Englischer Begriff

Autoantibodies against IgA, anti-IgA antibodies

Definition

Autoantikörper gegen IgA richten sich gegen Immunglobuline der Klasse IgA, sie können prinzipiell allen Immunglobulinklassen angehören, auch der Klasse IgA selbst. Es handelt sich allerdings in den meisten Fällen nicht um Autoantikörper im eigentlichen Sinne, sondern um Alloantikörper, da zumindest bei absolutem IgA-Mangel dieses Immunglobulin nicht zum Autoantigenrepertoire gehört.

Funktion und Pathophysiologie

Wirkliche Autoantikörper gegen IgA kommen sehr selten vor, sie wirken sich in gleicher Weise aus wie durch Immunisierung IgA-defizienter Personen induzierte Antikörper gegen IgA, wie sie häufig bei Personen mit absolutem oder relativem selektivem IgA-Mangel nach parenteraler Verabreichung von Blut oder Blutbestandteilen gefunden werden. Die Reaktion gegen das IgA erneut verabreichten Spenderbluts kann bei diesen Personen schwere nicht-hämolytische Transfusionsreaktionen auslösen.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Die meisten Anti-IgA-Autoantikörper gehören der Immunglobulinklasse IgG an. Der Nachweis geschieht in der Regel durch passive Hämagglutination.

Empfindliche ELISA sind in der Lage, entsprechende Autoantikörper auch in geringer Konzentration bei Normalpersonen ohne Immunglobulindefizienz nachzuweisen. Dabei wird zur Beschichtung der Festphase aus mehreren Myelomseren gewonnenes und hochgereinigtes IgA über Streptokokken-Protein B an die Oberfläche gebunden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Abklärung einer Transfusionsreaktion, Vorbereitung einer Transfusion.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen IgA werden bei 20 % der Patienten mit relativem IgA-Mangel (Werte unter 5 mg/dL) gefunden, liegt gleichzeitig ein systemischer Lupus erythematoses vor, beträgt die Prävalenz nahezu 100 %.

Bei Kaukasiern wird für den selektiven IgA-Mangel eine Prävalenz von 1:500 bis 1:100 angegeben. Die oft damit assoziierten Autoantikörper gegen IgA haben für die betroffenen Personen normalerweise keine negativen Folgen, abgesehen von der Möglichkeit schwerer Transfusionsreaktionen.

Ist eine Transfusion bei Patienten mit Anti-IgA-Antikörpern erforderlich, müssen in jedem Fall gewaschene Erythrocyten-Konzentrate verabreicht werden.

Literatur

1. Cunningham-Rundles, C (1996) IgA Autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y (eds) Autoantibodies. Elsevier Amsterdam, 417-422
2. Strober W, Wochner RD, Barlow MH, McFarlin DE, Waldmann TA (1968) Immunoglobulin metabolism in ataxia telangiectasia. J Clin Invest 47(8):1905-1915

Autoantikörper gegen IgE-Rezeptoren

Synonym(e)

Fc-ε-Rezeptor-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to Fcε-receptor

Definition

IgE-Rezeptoren werden auf der Oberfläche der basophilen Granulocyten und der Mastzellen exprimiert.

Funktion und Pathophysiologie

Reagieren die Autoantikörper gegen den IgE-Rezeptor mit ihren Zielantigenen, werden diese miteinander vernetzt, die physiologische, durch spezifisches IgE ausgelöste Reaktion imitierend, und es kommt zur Ausschüttung von Histamin.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen IgE-Rezeptoren bestehen vorwiegend aus IgG.

Durch einen funktionellen Test auf der Basis der Freisetzung von Histamin (Basophilen-Degranulation) lassen sich diese Autoantikörper in der Regel zuverlässiger bestimmen als mit den üblichen Immunoassays. Der Degranulationstest erreicht dabei eine Empfindlichkeit von etwa 3 ng/ml.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Fcε-Rezeptoren sind mit der chronischen idiopathischen Urtikaria assoziiert, mit einer Prävalenz zwischen 10 und 40 %.

Literatur

Hide M, Francis DM, Grattan CE, Barr RM, Winkelmann RK, Greaves MW (1994) The pathogenesis of chronic urticaria: new evidence suggest an auto-immune basis and implications for treatment. Clin Exp Allergy 24(7):624-627

Autoantikörper gegen Insulin

Synonym(e)

Insulin-Autoantikörper

Englischer Begriff

Insulin autoantibodies

Definition

Das Proteohormon Insulin wird in den β -Zellen der Pankreas-Inseln aus Proinsulin gebildet und bei physiologischem Bedarf an das Blut abgegeben. Es hat ein Molekulargewicht um 5,8 kDa und besteht aus zwei durch zwei Disulfidbrücken verknüpften Peptidketten. Insulin ist das wichtigste Hormon der Blutzuckerregulation. Es senkt den Blutglucosespiegel und hat auch einen direkten oder indirekten Einfluss auf andere Stoffwechselreaktionen, zum Beispiel den Fettstoffwechsel. Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels infolge Insulinmangels oder verminderter Insulinwirkung ergeben das Krankheitsbild des Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2.

Eine von vielen Ursachen des Insulinmangels ist die gegen Pankreas-Inseln und deren Bestandteile gerichtete Autoimmunität. Liegen Autoantikörper gegen Insulin vor, ergibt sich ein erhöhter Insulinbedarf. Von diesen Antikörpern sind die seltenen Autoantikörper gegen Insulin-Rezeptoren zu unterscheiden, die sowohl mit einer Hyperglycaemie, als auch mit einer Hypoglycaemie assoziiert sein können.

Funktion und Pathophysiologie

Im Zuge der Autoimmunreaktion bilden sich bei einem Insulin-abhängigen Diabetes mellitus Autoantikörper gegen verschiedene Inselzell-Antigene, deren Bestimmung für die Diagnose des Typ-1-Diabetes und dessen Prädiktion bei Verwandten ersten Grades von Diabetikern eine große Bedeutung erlangt hat: Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD), Tyrosin-Phosphatase (insulinoma associated antigen IA2), gegen den Zinktransporter ZnT8, weitere cytoplasmatische Inselzellbestandteile und Insulin.

Obwohl das Immunsystem schon vor der Geburt mit dem Insulin als unentbehrlichem Proteohormon Kontakt hat, kommt es bei Zerstörung der Insulin-produzierenden Inselzellen sekundär auch zur Bildung von Autoantikörpern gegen Insulin, die wahrscheinlich durch die Insulinvorstufen, das Prä-Proinsulin und das Proinsulin, ausgelöst wird. Einer oder mehrere dieser Autoantikörper sind bei fast allen Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose des Typ-1-Diabetes nachweisbar. Des Weiteren entwickeln manche Patienten im Laufe einer Therapie mit Insulin Antikörper gegen den Wirkstoff, weshalb man besonders vor der Ära des Humaninsulins bei einem gesteigerten Insulinbedarf häufig die Insulin-Spezies zu wechseln genötigt war (hier handelt es sich allerdings nicht um Autoantikörper).

Die Prävalenz der Autoantikörper gegen Insulin ist stark mit dem Lebensalter der Patienten korreliert. Bei Kindern mit einer Neumanifestation des Typ 1-Diabetes vor dem fünften Lebensjahr werden sie in der Hälfte der Fälle gefunden, während sie bei neu erkrankten Erwachsenen nur selten nachweisbar sind. Sie reagieren nicht nur mit humanem Insulin, sondern zeigen auch eine Kreuzreaktivität mit Insulin anderer Spezies.

Analytik

Autoantikörper gegen Insulin lassen sich durch Radioimmuntests und Enzymimmuntests (ELISA) bestimmen, wobei sich die ELISA-Methoden bisher nicht bewährt haben. Die mittels Radioimmuntest (Flüssigphasen-¹²⁵I-Insulin-Bindungsassay) bestimmten IAA haben eine höhere Diabetesrelevanz als die im ELISA gemessenen: Beim Flüssigphasen-Radioimmuntest sind alle Epitope des Insulinmoleküls für die IAA zugänglich, außerdem wird das Insulin in geringerer Konzentration als im ELISA eingesetzt. Beim ELISA ist das Insulin an die Festphase gebunden, wodurch einige Epitope verdeckt sein können.

Autoantikörper gegen Insulin-Rezeptoren untersucht man mit einem Radioimmuntest.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Kinder im Alter von weniger als fünf Jahren mit Diabetes mellitus weisen Autoantikörper gegen Insulin in über 90 % aller untersuchten Fälle auf, während die Prävalenz bei Diabetikern von über zwölf Jahren nur noch bei etwa 40 % liegt, bei Erwachsenen noch niedriger. Eine hohe Konzentration der Antikörper ist mit einem höheren Erkrankungsrisiko assoziiert. Um ein mögliches Diabetesrisiko im individuellen Fall gut abschätzen zu können, sollte eine Kombination aller Diabetes-mellitus-relevanter Autoantikörper getestet werden. Sind einer oder mehrere Parameter positiv, kann man versuchen, den drohenden Ausbruch eines Diabetes mellitus durch geeignete

Maßnahmen zu verhindern: Immunsuppression oder Diabetiker-Diät über mehrere Jahre (unbeschäftigte Pankreas-Inseln exponieren weniger Autoantigene).

Von den Autoantikörpern gegen Insulin sind die seltenen, aber wichtigen Autoantikörper gegen Insulin-Rezeptoren abzugrenzen. Sie können sowohl mit einer Hyperglycaemie einhergehen (Typ-B-Insulinresistenz), als auch mit Zuständen der Hypoglycaemie (hier wirken die Antikörper möglicherweise agonistisch; bei solchen Patienten findet man häufig neben einem Diabetes mellitus: SLE, Fettleibigkeit, Überfunktion der Ovarien oder Akanthosis nigricans). Beide Störungen können längerfristig durch eine Behandlung mit Cortison kuriert werden. Insbesondere bei SLE und rekurrierender idiopathischer Hypoglycaemie, aber ebenso bei Diabetikern mit sehr hohem Insulinbedarf sollte man daran denken, auch Autoantikörper gegen Insulin-Rezeptoren zu untersuchen.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln

Literatur

1. Taylor SI, Barbetti F, Accili D, Roth J, Gorden P (1989) Autoantibodies directed against insulin and its receptor. *Endocrinol Metab Clin North Am* Mar,18(1):123-143
2. Pozzilli P, Manfrini S, Monetini L (2001) Biochemical markers of type 1 diabetes: clinical use. *Scand J Clin Lab Invest* 61 (Suppl 235):38-44
3. Kiechle FL, Moore KH (2001) Insulin action and the clinical laboratory. *J Clin Ligand Assay* 24:217-228
4. Page KA, Dejardin S, Kahn CR, Kulkarni RN, Herold KC, Inzucchi SE (2007) A patient with type B insulin resistance syndrome, responsive to immune therapy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 3(12):835-840

Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen

Synonym(e)

Becherzell-Antikörper, BAK

Englischer Begriff

Intestinal goblet cell antibodies, gab

Definition

Autoantikörper gegen die intestinalen Becherzellen. Die Becherzellen von Duodenum bis Rektum zeigen gleiche Reaktivität, es besteht keine Antigengemeinschaft mit den übrigen Becherzellen des Organismus, etwa der Magenschleimhaut.

Funktion und Pathophysiologie

Das exklusive Vorkommen der Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen bei Colitis ulcerosa (CU) ist möglicherweise Ausdruck einer pathogenetisch maßgeblichen Autoimmunität. Im Vergleich dazu findet man bei der zweiten chronisch-entzündlichen Darmerkrankung, dem Morbus Crohn, ebenfalls krankheitsspezifische Autoantikörper: Diese sind gegen ein Sekretionsprodukt des Pankreas gerichtet (Pankreas-Azinuszell-Antikörper) und haben wahrscheinlich ebenfalls eine hohe Relevanz bei der Krankheitsentstehung.

Die Verteilung der Becherzellen spiegelt makroskopisch wie mikroskopisch die Krankheitslokalisation wider: Im Duodenum gibt es nur wenige Becherzellen, zum Rektum hin nehmen sie an Zahl kontinuierlich zu. Entsprechend ist das Duodenum bei Colitis ulcerosa niemals befallen, die Krankheit beginnt im Rektum und dehnt sich mit zunehmender Krankheitsaktivität nach oben aus. Und in den Krypten des Colon findet man eine hohe Becherzell-dichte, wie auch bei der Untersuchung der Biopsien eine Kryptitis immer als Zeichen der Colitis ulcerosa gesehen wird, bei M. Crohn ist eine Kryptitis eher eine Ausnahme.

Das für die Colitis ulcerosa maßgebliche Zielantigen ist noch nicht genau identifiziert.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Alle vier bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen relevanten Antikörper werden im allgemeinen durch indirekte Immunfluoreszenz untersucht: Antikörper gegen intestinale Becherzellen, Granulocyten (pANCA), exokrines Pankreas und *Saccharomyces cerevisiae*. Als Substrat für die Diagnostik der Becherzell-Antikörper wurde bisher Primatendarm verwendet (optimal wäre human-fetales Darmgewebe: Einerseits stammt es von der richtigen Spezies, andererseits ist es noch nicht mit Bakterien oder exogenen Antigenen kontaminiert). Entgegen den Empfehlungen mancher Autoren ist Nagetiergewebe absolut ungeeignet. Heute steht für die Immunfluoreszenz auch eine Colonzell-Linie (HT29-18N2) zur Verfügung, die gleichzeitig eine gute Antigenquelle für die Entwicklung von ELISA-Systemen und zur Antigen-Charakterisierung darstellt.

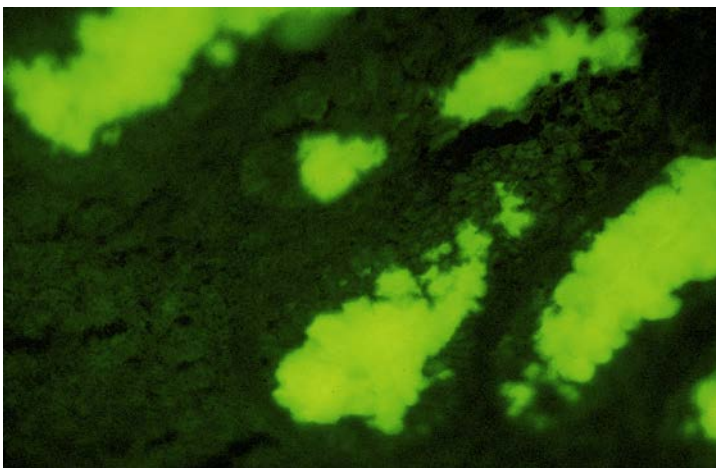


Abb. 32 Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen (BAK).
Substrat Primatendarm.

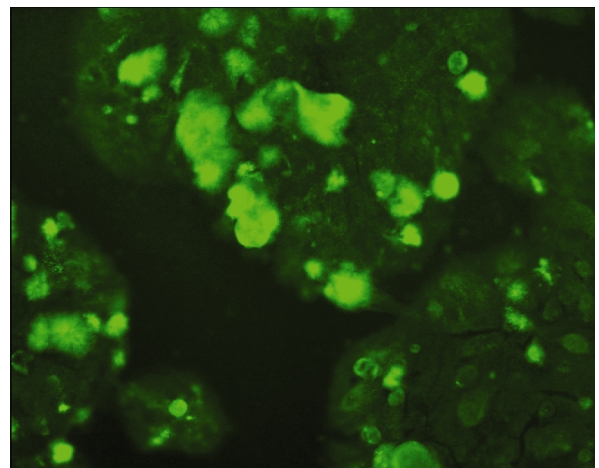


Abb. 33 Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen (BAK).
Substrat HT29-18N2-Zellen.

Die Ausgangsverdünnung ist für Becherzell-Antikörper 1:10. Bei einem positiven Ergebnis erhält man eine unscharf begrenzte, wolkige Fluoreszenz über den Becherzellen. Die Prävalenz positiver Ergebnisse bei CU beträgt leider nur 28 % (M. Crohn 0 %, Gesunde 0 %), die Immunglobulinklassen verteilen sich wie folgt: IgA 8 %, IgG 23 %, IgA plus IgG 69 %.

Die Prävalenz der Becherzell-Antikörper bei Colitis ulcerosa überwiegt bei männlichen Patienten (m:w = 3,3:1), nicht dagegen die Prävalenz der pANCA (m:w = 0,9:1).

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Becherzell-Antikörper wie auch pANCA, Antikörper gegen exokrines Pankreas und Antikörper gegen *Saccharomyces cerevisiae* könnten die Differentialdiagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (M. Crohn, Colitis ulcerosa) maßgeblich bereichern: Vielen Patienten bliebe eine unangenehme Tortur erspart, wenn die Kliniker von der so aussagekräftigen Serologie mehr Gebrauch machten. Die Autoantikörper-Diagnostik scheint angesichts ihrer gerade in der Gastroenterologie (bei positiven Befunden) unerreichten Treffsicherheit zu sehr im Wettbewerb mit der Endoskopie zu stehen.

Interpretation

Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen sind pathognomonisch für Colitis ulcerosa. Sie besitzen eine diagnostische Sensitivität von 28 % und eine diagnostische Spezifität von 100 % für diese Erkrankung. Durch eine zusätzliche Untersuchung der antineutrophilen cytoplasmatischen Antikörper vom perinukleären Typ (pANCA) können 83 % der Patienten mit CU erfasst werden.

Diagnostische Wertigkeit

Bei Colitis ulcerosa wie auch (seltener) bei M. Crohn können zusätzlich Antikörper gegen Granulozyten vorkommen (pANCA, siehe Autoantikörper gegen Granulozyten-Cytoplasma (ANCA, cANCA, pANCA)). Sie werden durch indirekte Immunfluoreszenz mit Ausstrichen humaner Ethanol-fixierter Granulozyten nachgewiesen, zeigen eine glatte, zum Teil auch feingranuläre, perinukleäre Fluoreszenz des Cytoplasma (pANCA) und reagieren nicht mit Formalin-fixierten Granulozyten. Die gleichen pANCA findet man auch bei der mit Colitis ulcerosa oft assoziierten Primär-sklerosierenden Cholangiitis, das Zielantigen ist noch nicht genau definiert, es ist weder Myeloperoxidase und Proteinase 3, noch Laktoferrin, Lysozym, Elastase und Kathepsin G. Die Prävalenz dieser pANCA für CU liegt bei 67 % (M. Crohn 7 %, Gesunde 0-1 %), Verteilung der Immunglobulinklassen: IgA 3 %, IgG 39 %, IgA plus IgG 58 %.

Literatur

1. Broberger O, Perlman P (1959) Autoantibodies in human ulcerative colitis. J Exp Med 110:657-674
2. Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Stöcker K, Jantschek G (1984) Autoantikörper gegen exokrines Pankreas und gegen intestinale Becherzellen in der Diagnostik des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa. Dtsch Med Wschr 109(51-52):1963-1969
3. Stöcker W, Otte M, Scriba PC (1984) Zur Immunpathogenese des Morbus Crohn. Dtsch Med Wschr 109(51-52):1984-1986
4. Main J, McKenzie H, Yeaman GR, Kerr MA, Robson D, Pennington CR, Parrat D (1988) Antibody to *Saccharomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. BMJ 297(6656):1105-1106
5. Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S (1990) A distinct subset of antineutrophil cytoplasmatic antibodies associated with inflammatory bowel disease. J Allergy Clin Immunol 86(2):202-210
6. Conrad K, Bachmann M, Stöcker W (2006) Anti-intestinal goblet cell antibodies. In: Shoenfeld Y., Gershwin ME, Meroni PL (Hrsg.) Autoantibodies. 2. Aufl. Elsevier 417-422

Autoantikörper gegen Intrinsic-Faktor

Synonym(e)

Anti-IF-Antikörper; Anti-IFA

Englischer Begriff

Antibodies to intrinsic factor

Definition

Der Intrinsic-Faktor ist ein Sekretionsprodukt der Parietalzellen des Magens und für die Resorption des Vitamins B12 im Ileum erforderlich. Antikörper gegen den Intrinsic-Faktor sind mit der Perniziösen Anämie assoziiert.

Funktion und Pathophysiologie

Der Intrinsic-Faktor ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 70 kDa. Er dient als Transport- und Schutzprotein: Oral aufgenommenes Vitamin B12 verbindet sich in Magen und Duodenum mit dem Intrinsic-Faktor zu einem Komplex und wird dadurch vor Abbau oder Verbrauch durch die Darmflora geschützt, bis der Komplex im distalen Ileum resorbiert wird.

Bei Autoantikörpern gegen den Intrinsic-Faktor werden zwei Typen unterschieden: Antikörper des Typs 1 reagieren mit der Vitamin-B12-Bindungsstelle, sie blockieren also die Komplexbildung. Dagegen binden sich Antikörper des Typs 2 außerhalb der Vitamin-B12-Bindungsstelle.

Autoantikörper gegen den Intrinsic-Faktor (IFA) sind (wie auch Autoantikörper gegen die Parietalzellen des Magens) mit der Perniziösen Anämie (PA) assoziiert, aber nicht bei jedem PA-Patienten im Serum nachweisbar. IFA des Typs 1 treten bei 70 % der PA-Patienten im Serum auf, IFA des Typs 2 nur bei 35 %, und nur dann, wenn auch IFA des Typs 1 vorliegen.

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen Intrinsic-Faktor werden üblicherweise mit Enzymimmun- oder Radioimmuntests bestimmt, sie können aber auch durch indirekte Immunfluoreszenz an mit Intrinsic-Faktor-beschichteten Oberflächen untersucht werden. Die Ausgangsverdünnung der Seren beträgt in der Fluoreszenz 1:10.

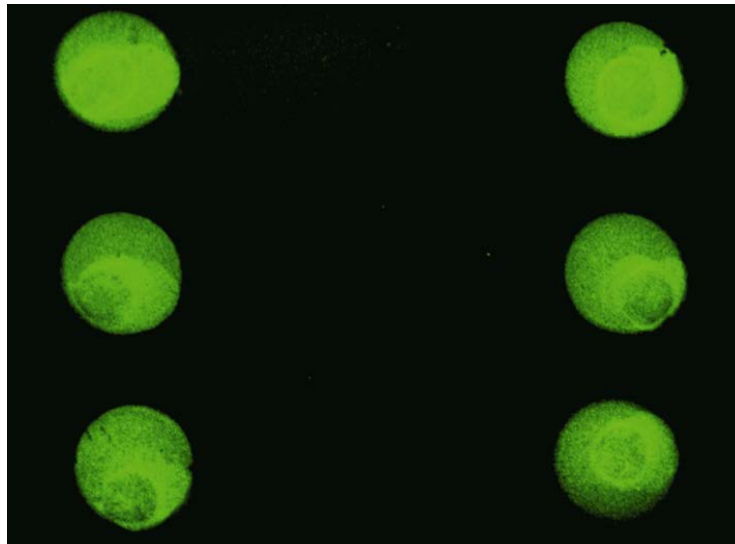


Abb. 34 Autoantikörper gegen Intrinsic-Faktor.
Substrat Intrinsic-Faktor-Antigen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Bei einigen Patienten mit chronisch-atrophischer Gastritis (Fundustyp) ohne klinische Hinweise auf eine gleichzeitig vorliegende Perniziöse Anämie können bereits Autoantikörper gegen Intrinsic-Faktor vorliegen. Diese Patienten

entwickeln mit großer Wahrscheinlichkeit später doch eine Perniziöse Anämie.

Vor der Ära der parenteralen Therapie mit Vitamin B12 (Cyanocobalamin) wurden Patienten mit Perniziöser Anämie Präparate der Magenschleimhaut des Schweins verabreicht. In diesen Fällen bildeten sich oft heterologe Antikörper der Klasse IgA gegen Intrinsic-Faktor, in gleichem Maße wurden die Patienten refraktär gegen die Therapie.

Literatur

Mardh S, Ma JY, Song YH, Aly A, Henriksson K (1991) Occurrence of autoantibodies against intrinsic factor, H-K-ATPase, and pepsinogen in atrophic gastritis and rheumatoid arthritis. Scand J Gastroenterol 26(10):1089-1096

Autoantikörper gegen Kaliumkanäle

Synonym(e)

Kaliumkanal-Komplex-Autoantikörper, Anti-VGKC-Komplex-Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to voltage gated potassium channels (VGKC), VGKC-complex antibodies

Definition

Autoantikörper gegen spannungsabhängige Kaliumkanäle (VGKC) wurden zuerst durch ihre Reaktivität in einem Radioimmuntest definiert. Von ihnen richten sich 3 % gegen die K_v1.1-, K_v1.2- und K_v1.6-Untereinheiten der Kaliumkanäle, 80 % gegen die VGKC-assoziierten Proteine LGI1 (leucine-rich glioma-inactivated protein 1), CASPR2 (contactin-associated protein 2) und (seltener) TAG1 (transient axonal glycoprotein 1/contactin-2). Etwa 20 % der RIA-positiven Autoantikörper binden sich an Epitope noch nicht identifizierter Antigene bzw. werden von den bislang verfügbaren monospezifischen Testsystemen nicht erfasst.

Funktion und Pathophysiologie

Spannungsabhängige Kaliumkanäle sind unter anderem für die Repolarisation der neuronalen Zellmembran nach Aktionspotentialen verantwortlich. LGI1 liegt in synaptischen VGKC-Komplexen vor, reguliert die VGKC-Inaktivierung und ist bei der Glutamat-Rezeptor- (Typ AMPA) vermittelten Signaltransduktion involviert. CASPR2 gehört zur Neurexin Superfamilie und vermittelt ebenfalls Interaktionen zwischen den Nervenzellen. Autoantikörper gegen LGI1 beeinträchtigen dessen Funktion und verursachen dadurch eine gesteigerte Erregbarkeit. Entsprechend der hohen Dichte des Antigens im Hippocampus resultiert die Autoimmunität in der Symptomatik einer limbischen Enzephalitis. CASPR2-Autoantikörper scheinen eine Abnahme der VGKC-Dichte auf den Axonen peripherer Nerven zu bewirken, mit der Folge einer für die erworbene Neuromyotonie charakteristischen neuromuskulären Hyperexzitabilität.

Autoantikörper gegen Komponenten der VGKC-Komplexe entstehen möglicherweise infolge einer irregulären ektopen Expression der Antigene in neoplastischem Gewebe. Für eine Beteiligung der Autoimmunreaktionen an der Pathogenese der assoziierten neurologischen Symptomatik spricht, dass eine immunsuppressive Intervention in den meisten Fällen eine klinische Besserung zur Folge hat.

Analytik

Für den Radioimmuntest werden VGKC aus Hirn-Homogenat isoliert und mit dem Schlangengift ¹²⁵I- α -Dendrotoxin markiert. Nach Inkubation mit Patientenserum (Immunpräzipitation) werden die Komplexe abzentrifugiert und gewaschen. Die im Niederschlag messbare Radioaktivität ist proportional zur Konzentration der Anti-VGKC-Autoantikörper.

Anti-LGI1- und Anti-CASPR2-Antikörper stellen sich im indirekten Immunfluoreszenztest mit Gefrierschitten des Hippocampus und des Cerebellum als glatte bis feingranuläre Fluoreszenz vorwiegend des Stratum moleculare dar. Der monospezifische Nachweis erfolgt mittels transfizierter HEK-293-Zellen, die LGI1, CASPR2 oder TAG1 rekombinant exprimieren.

Es empfiehlt sich, zusätzlich die wichtigsten anderen Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene parallel zu untersuchen, was in vielen Fällen eine schnelle und sichere (ggf. unvermutete) lebenswichtige Diagnose zur Folge hat.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen LGI1 sind zu ≥ 90 % mit einer speziellen Form autoimmuner limbischer Enzephalitis assoziiert. Anti-CASPR2-Autoantikörper finden sich überwiegend (53 %) bei Patienten mit Neuromyotonie oder Morvan-Syndrom und bei Enzephalitis, treten aber auch im Zusammenhang mit limbischer Enzephalitis (37 %) oder isolierter Epilepsie (10 %) auf. Sie gehören zur Gruppe der fakultativ paraneoplastischen Antikörper: In 10-30 % der Fälle liegt den neurologischen Syndromen eine paraneoplastische Ätiologie zu Grunde, d. h. ein positiver Antikörperbefund kann ein Hinweis für das Vorliegen eines Tumors (Thymom u. a.) sein.

Durch wirklich schnelles Handeln kann man kognitive Defizite vermeiden und die Rezidivrate reduzieren. Es gilt, einer späteren Sklerose der betroffenen Hirnareale (Hippocampus) entgegenzuwirken und bedarf einer frühen und aggressiven Therapie. Akut: Methylprednisolon plus Immunglobulin-Konzentrate, dann ggf. Azathioprin und orale Steroide oder Rituximab.

Literatur

1. Lai M, Huijbers MG, Lancaster E, Graus F, Bataller L, Balice-Gordon R, Cowell JK, Dalmau J (2010) Investigation of LGI1 as the antigen in limbic encephalitis previously attributed to potassium channels: a case series. *Lancet Neurol* 9(8):776-785

2. Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, Peles E, Buckley C, Lang B, Vincent A (2010) Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain* 133(9):2734-2748
3. Lancaster E, Huijbers MG, Bar V, Boronat A, Wong A, Martinez-Hernandez E, Wilson C, Jacobs D, Lai M, Walker RW, Graus F, Bataller L, Illa I, Markx S, Strauss KA, Peles E, Scherer SS, Dalmau J (2011) Investigations of caspr2, an autoantigen of encephalitis and neuromyotonia. *Ann Neurol* 69(2):303-311
4. Wandinger KP, Klingbeil C, Gneiss C, Waters P, Dalmau J, Saschenbrecker S, Borowski K, Deisenhammer F, Vincent A, Probst C, Stöcker W (2011) Neue serologische Marker zur Differentialdiagnose der Autoimmun-Enzephalitis. *J Lab Med* 35(6):329-342

Autoantikörper gegen Kollagen

Synonym(e)

Kollagen-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to collagen

Definition

Autoantikörper gegen Kollagen umfassen eine Gruppe von Antikörpern die gegen verschiedene Kollagentypen gerichtet sein können. Diese sind mit unterschiedlichen Autoimmunerkrankungen assoziiert.

Funktion und Pathophysiologie

Kollagene sind eine heterogene Proteinklasse, zu der (bis heute) 25 verschiedene Kollagentypen gezählt werden. Ihre Funktion besteht vornehmlich in der Strukturbildung der extrazellulären Matrix.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen citrulliniertes Kollagen II werden im ELISA untersucht, teilweise unter Verwendung rekombinanter Antigene. Antikörper gegen glomeruläre Basalmembran, Kollagen VII und gegen Kollagen XVII bestimmt man durch ELISA, Immunblot und indirekte Immunfluoreszenz. Antikörper gegen Kollagen VII zeigen mit Gefrierschnitten humaner Spalthaut („1M NaCl-split human skin“) eine Reaktion der Basalmembran am Blasenboden, bei Antikörpern gegen Kollagen XVII reagiert die Basalmembran im Bereich des Blasendaches.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Mehrere Kollagentypen standen im Verdacht, Zielantigene verschiedener Autoimmunerkrankungen zu sein. Gesichert ist das heute nur für folgende Strukturen:

1. Kollagen II: Gehört zu den fibrillären Kollagenen. Autoantikörper gegen das intakte native Kollagen II finden sich in geringer Prävalenz bei Rheumatoider Arthritis (10-20 %). Die Nachweisrate steigt auf 70 %, wenn man die Arginin-Bausteine des für die Analytik verwendeten Kollagens II durch Citrullin ersetzt (in der Pathogenese der Rheumatoiden Arthritis geht diese Umsetzung in entzündetem Gewebe unter Mitwirkung des Enzyms Peptidyl-Arginin-Deiminase vonstatten). Die Citrullinierung findet an den carboxyterminalen Telopeptiden statt. Entsprechende Tests haben sich bisher gegenüber der Bestimmung der Antikörper gegen CCP nicht durchgesetzt, siehe Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP).
2. Kollagen IV bei Goodpasture-Syndrom. Zielstruktur ist die globuläre NC1-Domäne des Kollagen IV, sie wird üblicherweise als GBM- (glomeruläre Basalmembran) -Antigen bezeichnet. Autoantikörper gegen GBM beweisen das Goodpasture-Syndrom.
3. Kollagen VII bei Epidermolysis bullosa acquisita (EBA). Es ist Hauptbestandteil der Ankerfibrillen, durch die im Bereich der Basalmembran die Epidermis mit der Dermis verbunden wird. Die Autoantikörper haben einen unmittelbaren Einfluss auf die Pathogenese: Nach Bindung an die Zielstrukturen aktivieren sie den alternativen Komplementweg und rufen die Bildung von Blasen hervor. Die Bestimmung dieser Antikörper dient der Abgrenzung der EBA von der genetisch bedingten Dystrophischen Epidermolysis Bullosa, die durch ein abnormes oder fehlendes Kollagen VII verursacht wird.
4. Kollagen XVII = BP180, eines der Zielantigene bei Bullösem Pemphigoid und Pemphigoid gestationis: Siehe Autoantikörper gegen epidermale Basalmembran

Diagnostische Wertigkeit

Es ist nicht mehr zeitgemäß, im Labor die Bestimmung der "Antikörper gegen Kollagen" global anzufordern, insbesondere weil die Indikation unterschiedliche Bereiche der Medizin betreffen kann: Rheumatologie, Nephrologie und Dermatologie.

Autoantikörper gegen Ku

Synonym(e)

Ku-Antikörper, Anti-Ku (p70/p80), Anti-Ku (p70/p86)

Englischer Begriff

Antibodies against Ku, anti-Ku, anti-Ku (p70/p80), anti-Ku (p70/p86)

Definition

Antikörper gegen Ku sind gegen ein DNS-bindendes, nukleäres Heterodimer gerichtet, das an der Reparatur von dsDNS-Brüchen, der Verhinderung der Rekombination von Telomerenden sowie deren Längenregulation beteiligt ist.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen Ku zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne, die Nukleoli sind teilweise positiv. Es ist kaum ein Unterschied zu Antikörpern gegen SS-A, SS-B, Sm und RNP zu erkennen, dagegen zeigt die parallel, möglichst im selben Feld mitinkubierte Primatenleber eine typische schollig-fleckige Färbung der Zellkerne, die fast unverwechselbar Antikörper gegen Ku beweist. Die Ausgangsverdünnung des Serums beträgt 1:100.

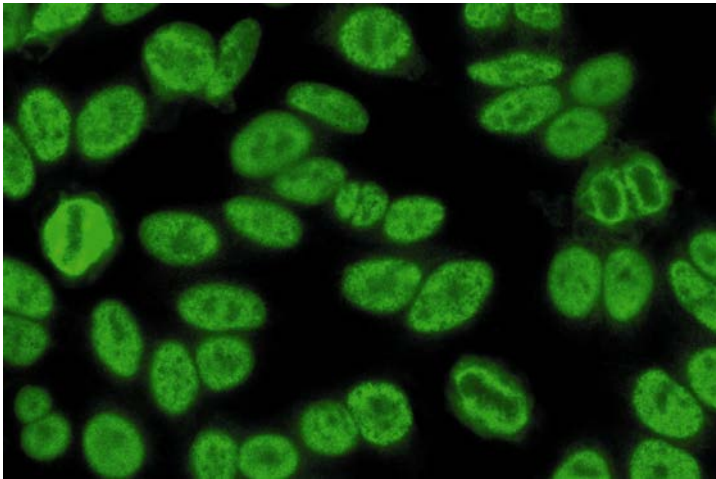


Abb. 35 Autoantikörper gegen Ku.
Substrat HEp-2-Zellen.

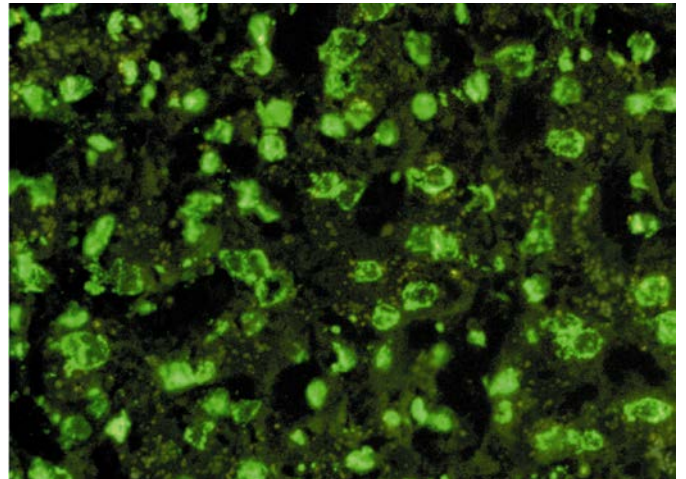


Abb. 36 Autoantikörper gegen Ku.
Substrat Primatenleber.

Wer sich nicht ganz sicher ist, kann bei einem positiven Resultat im IIFT zur genauen Identifizierung des Zielantigens einen geeigneten monospezifischen Immunblot einsetzen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Ku treten mit folgenden Prävalenzen auf: Poly/Dermatomyositis-Progressive Systemisklerose-Überlappungssyndrom 25-50 % (häufig einhergehend mit primärem pulmonalem Hochdruck), verschiedene Myositisformen 5-10 %, systemischer Lupus erythematodes 10 % und Progressive Systemisklerose bis zu 5 %.

Literatur

1. Mimori T, Akizuki M, Yamagata H, Inada S, Yoshida S, Homma M (1981) Characterization of a high molecular weight acidic nuclear protein recognized by autoantibodies in sera from patients with polymyositis-scleroderma overlap. *J Clin Invest* 68(3):611-620
2. Mierau R, Genth E (1995) Diagnostische Bedeutung Sklerodermie- und Myositis-assoziiierter Autoantikörper. *Z Rheumatol* 54(1):39-49
3. Bertuch AA, Lundblad V (2003) The Ku heterodimer performs separable activities at double-strand breaks and chromosome termini. *Mol Cell Biol* 23(22):8202-8215

Autoantikörper gegen Laktoferrin

Synonym(e)

Autoantikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin

Englischer Begriff

Autoantibodies against lactoferrin

Funktion und Pathophysiologie

Laktoferrin (Laktotransferrin) ist ein Eisen-bindendes Protein, das aus einer Peptidkette mit zwei an Asparagin gebundenen Oligosacchariden besteht und zur Transferrin-Familie gehört. Es wird in neutrophilen Granulocyten sowie in Drüsenepithelzellen gebildet. Laktoferrin findet sich in Serum, Gallensaft, Sperma, Pankreassekret, Urin, Stuhl, Bronchialsekret und vor allem in der Muttermilch (ca. 5,5 g/l). Jedes Laktoferrin-Molekül kann zwei Eisen-III-Ionen binden und dadurch insbesondere in der Schleimhaut das Wachstum von Bakterien und Pilzen, die zum Wachstum Eisen benötigen, hemmen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Das Zielantigen der Autoantikörper gegen Laktoferrin ist das in den cytoplasmatischen Granula der neutrophilen Granulocyten lokalisierte Laktoferrin. Nachweis durch indirekte Immunfluoreszenz. Spezielle durch hohe Salzkonzentrationen depletierte und selektiv mit Laktoferrin beaufschlagte Granulocyten-Substrate reagieren spezifisch mit den Seren von Patienten mit Colitis ulcerosa und mit Primär-sklerosierender Cholangiitis.

Für die Bestimmung der Anti-Laktoferrin-Antikörper in der Diagnostik der Colitis ulcerosa und der Primär-sklerosierenden Cholangiitis kommt es darauf an, dass das Laktoferrin in DNS-gebundener Form vorliegt. Das wurde in der Vergangenheit nicht beachtet, sodass die Bedeutung dieser Antikörper in der Gastroenterologie widersprüchlich beurteilt und unterschätzt wurde.

Referenzbereich

Negativ

Indikation

Der serologische Nachweis der Autoantikörper gegen DNS-gebundenes Laktoferrin kann zur Diagnose chronisch-entzündlicher Darm- und Lebererkrankungen beitragen. Mit Laktoferrin angereicherte Granulocyten reagierten bei Colitis ulcerosa in 72 % (Morbus Crohn 3 %, Primär-sklerosierende Cholangiitis 42 %, gesunde Blutspender 0 %).

Literatur

Komorowski L, Teegen B, Probst C, Schlumberger W, Stöcker W (2009) ELISA for the detection of autoantibodies against DNA-bound lactoferrin in ulcerative colitis. In: Conrad K et al (eds) From Pathogenesis to Therapy of Autoimmune Diseases. Pabst Science Publishers: 474-475

Autoantikörper gegen LAMP-2 (Granulocyten)

Synonym(e)

Anti-hLAMP-2-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against the lysosomal-associated membrane protein 2

Definition

Die Autoantikörper richten sich gegen die extrazelluläre Domäne des humanen Lysosomen-assoziierten Membranproteins 2 der Granulocyten (LAMP-2)

Funktion und Pathophysiologie

Das Lysosomen-assoziierte Membranprotein LAMP-2 spielt eine Rolle bei Zelladhäsion, Antigenpräsentation und Autophagocytose. Es ist stark glykosiliert und wird auf der Zelloberfläche und in der Membran der Myeloperoxidase und Proteinase 3 enthaltenden Vesikel neutrophiler Granulocyten exprimiert, zusätzlich kommt LAMP-2 auch auf Endothelzellen vor und ist dadurch zirkulierenden Autoantikörpern direkt zugänglich. Deren pathogenetische Bedeutung wird durch experimentelle Befunde an Ratten unterstrichen: Die Tiere entwickeln nach Injektion dieser Antikörper eine pauci-immune fokal nekrotisierende Glomerulonephritis.

Die Antikörper erkennen ein Epitop des humanen LAMP-2 (P₄₁₋₄₉), das zu dem bakteriellen Fimbrien-Protein FimH eine 100 %ige Homologie aufweist. Einigen Bakterienarten dienen Fimbrien als Haftorganellen, mit denen sie sich über Adhäsine der Membran einer Wirtszelle anlagern. Eine FimH-induzierte Autoimmunität könnte die Pathogenese der pauci-immunen fokal nekrotisierenden Glomerulonephritis erklären. So ist auch bekannt, dass eine Infektion mit Fimbrien-haltigen Bakterien häufig dem Beginn einer fokal nekrotisierenden Glomerulonephritis vorausgeht.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen humanes LAMP-2 zeigen in der indirekten Immunfluoreszenz mit Ethanol-fixierten Granulocyten ein cANCA-Muster. Das Antigen wird auch von humanen Epithelzellen exprimiert, die Antikörper werden deshalb häufig rein zufällig bei der Bestimmung der Autoantikörper gegen Zellkerne im Immunfluoreszenztest beobachtet, die HEp-2-Zellen bieten eine typische fein- bis grobtropfige („lysosomale“) Fluoreszenz des Cytoplasmas.

Referenzbereich

Negativ

Indikation

Das Membranprotein hLAMP-2 ist 2005 als neues ANCA-Antigen beschrieben worden. Die Autoantikörper kommen gelegentlich bei aktiver Wegener'scher Granulomatose vor und werden als ein vielversprechender neuer, zusätzlicher Biomarker für die ANCA-assoziierte Vaskulitis gehandelt. Autoantikörper gegen hLAMP-2 sind bei 93 % der Patienten mit pauci-immuner fokaler nekrotisierender Glomerulonephritis (im Rahmen einer Wegener'schen Granulomatose) nachweisbar. Diese akute entzündliche Erkrankung führt zu einem raschen irreversiblen Nierenversagen, typischerweise bei ANCA-assoziiierter Vaskulitis kleiner Gefäße, unter anderem bei der Wegener'schen Granulomatose oder bei der mikroskopischen Polyangiitis.

Literatur

Kain R, Exner M, Brandes R et al. (2008) Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nature Medicine* 14 (10):1088-1096

Autoantikörper gegen Leber-Cytosol-Antigen 1

Synonym(e)

Autoantikörper gegen cytosolisches Leberantigen Typ 1, Antikörper gegen Formiminotransferase-Cyclodeaminase, Antikörper gegen Leber-Cytosol-Antigen 1, LC-1-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against LC-1 (liver cytosolic antigen type 1)

Definition

Als das spezifische Zielantigen der Antikörper gegen LC-1 konnte 1999 das Enzym Formiminotransferase-Cyclodeaminase identifiziert werden, ein leberspezifisches Enzym mit einem Molekulargewicht von 62 kDa.

Untersuchungsmaterial

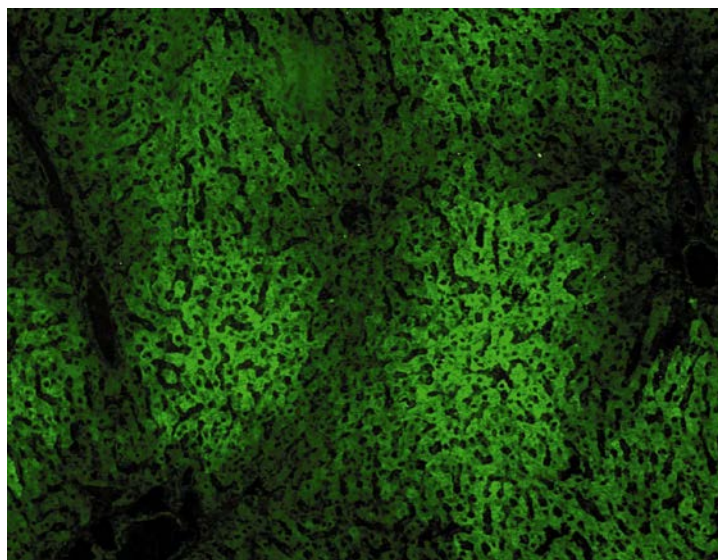
Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu 2 Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

In der indirekten Immunfluoreszenz zeigen LC-1-Antikörper eine fleckförmige perizentrale Fluoreszenz auf Ratten- und Primatenleber, der unmittelbare Bereich um die Glisson'sche Trias ist (im Gegensatz zu anderen Angaben) ausgespart. Außerdem sieht man bei Anti-LC-1 oft eine feine kristalline Fluoreszenz oberhalb der Fokussierebene, wahrscheinlich handelt es sich dabei um Immunkomplexe aus teilweise herausgelöstem Antigen und den Autoantikörpern. Alle übrigen Gewebe (Magen, Niere, HEp-2-Zellen usw.) zeigen keine Reaktion.



**Abb. 37 Autoantikörper gegen Leber-Cytosol-Antigen 1.
Substrat Rattenleber.**

Autoantikörper gegen LC-1 lassen sich mit Enzymimmuntests (ELISA, Immunblot) auf der Basis eines rekombinanten Antigens sowie mit einem Westernblot unter Verwendung eines Lebervollektrates sicher nachweisen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Unklare Erhöhung der Transaminasen, Verdacht auf Autoimmunhepatitis (AIH)

Diagnostische Wertigkeit

Die Prävalenz der Autoantikörper gegen LC-1 bei AIH liegt bei 5 %. Sie sind ein deutlicher Hinweis auf eine Autoimmunhepatitis. Für LC-1-Antikörper ist keine Assoziation mit viraler Hepatitis beschrieben wie bei LKM-Antikörpern, die zudem noch seltener sind als Anti-LC-1, aber von denen aus Tradition diagnostisch mehr Gebrauch gemacht wird.

Die serologische Bestimmung der Autoantikörper gegen LC-1 ermöglicht bei einigen Patienten mit AIH eine präzise Abgrenzung zur Virushepatitis, die für die hepatologische Klinik maßgebliche Konsequenzen hat: Die Fehlbe-

handlung einer AIH mit Interferon kann ebenso fatale Folgen haben wie eine immunsuppressive Therapie der Virusinfektion.

Zur Abgrenzung gegenüber einer Virushepatitis ist die parallele Bestimmung der übrigen AIH-assoziierten Autoantikörper zu empfehlen, wie z. B. ANA, pANCA, ASMA oder Antikörper gegen LKM und SLA/LP.

Literatur

Lapierre P, Hajoui O, Homberg JC, Alvarez F (1999) Formiminotransferase cyclodeaminase is an organ-specific autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 116(3):643-649

Autoantikörper gegen LKM

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Leber-Niere-Mikrosomen

Englischer Begriff

Autoantibodies against liver-kidney microsomes

Definition

LKM ist in den Mikrosomen der Leber und der Niere lokalisiert. Durch Sequenzierung und Klonierung wurde das Antigen als Cytochrom P450 IID6 identifiziert.

Untersuchungsmaterial

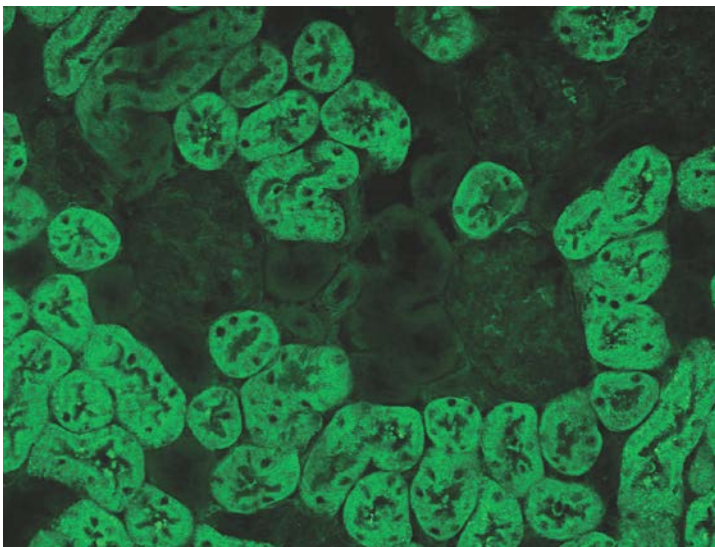
Serum, Plasma

Probenstabilität

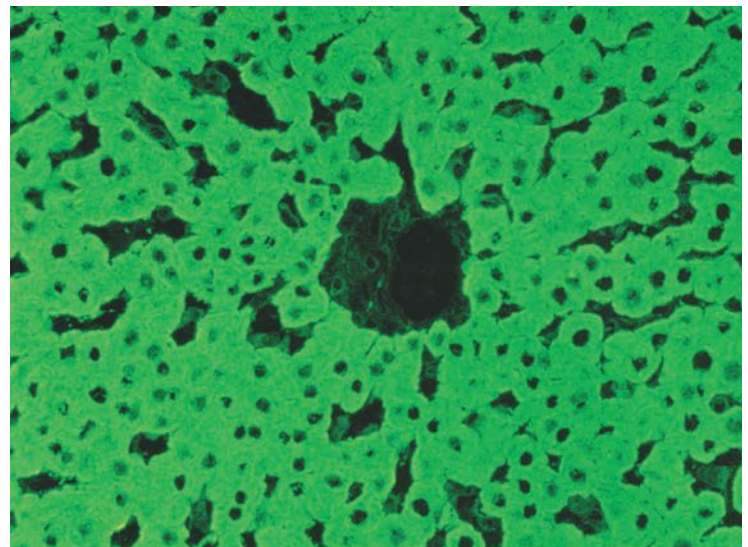
Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen LKM werden im indirekten Immunfluoreszenztest Gefrierschnitte der Rattenniere, der Rattenleber und der HEp-2-Zellen als Substrat-Kombination eingesetzt. Dieses kleine Mosaik ermöglicht auch eine Abgrenzung gegenüber Autoantikörpern gegen Mitochondrien (AMA). Rattenniere: Im Bereich der Nierenrinde ist eine glatte bis feingranuläre cytoplasmatische Fluoreszenz der proximalen Tubuli sichtbar. Die distalen Tubuli und die Glomeruli sind negativ. Rattenleber: Antikörper gegen LKM reagieren gut mit der Rattenleber und färben das Cytoplasma der Hepatocyten glatt an. Im Regelfall erscheint die Intensität der Fluoreszenz der Leberzellen mindestens ebenso hell wie die der proximalen Nierentubuli. HEp-2-Zellen: Negativ, im Gegensatz zu Autoantikörpern gegen Mitochondrien. Autoantikörper gegen LKM lassen sich mit Enzymimmuntests (ELISA, Immunblot) auf der Basis eines rekombinanten Antigens sowie mit einem Westernblot unter Verwendung eines Leberextraktes sicher nachweisen.



**Abb. 38 Autoantikörper gegen Leber-Nieren-Mikrosomen.
Substrat Rattenniere.**



**Abb. 39 Autoantikörper gegen Leber-Nieren-Mikrosomen.
Substrat Rattenleber.**

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Unklare Erhöhung der Transaminasen, Verdacht auf Autoimmunhepatitis (AIH)

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen Leber-Niere-Mikrosomen treten nur bei 1 % erwachsener AIH-Patienten auf, bei Kindern sind sie häufiger. Man findet sie aber auch bei ca. 5 % der Patienten mit positiver Hepatitis-C-Serologie. Da sie weder mit Antikörpern gegen SLA/LP assoziiert sind, noch zusammen mit den übrigen AIH-relevanten Antikörpern

pern vorkommen, lässt sich durch ihren Nachweis die serologische Trefferquote in der AIH-Diagnostik erhöhen, insbesondere bei Kindern. Zur Abgrenzung gegenüber einer Virushepatitis ist die parallele Bestimmung der übrigen AIH-assoziierten Autoantikörper zu empfehlen, wie z. B. ANA, pANCA, ASMA oder Antikörper gegen LC-1 und SLA/LP. Siehe auch Autoimmune-Lebererkrankungen-assoziierte Autoantikörper.

Literatur

1. Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil SH, Poupon R, Darnis F, Levy VG, Gripon P (1987) Chronic active hepatitis associated with anti liver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. *Hepatology* 7(6):1333-1339
2. Manns MP, Johnson EF, Griffin KJ, Tan EM, Sullivan KF (1989) Major antigen of liver kidney microsomal autoantibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450db1. *J Clin Invest* 83(3):1066-1072

Autoantikörper gegen Ma (Ma1, Ma2/Ta)

Synonym(e)

Ma(Ma1, Ma2/Ta)-Autoantikörper, Autoantikörper gegen PNMA (Paraneoplastisches Antigen) 1/2

Englischer Begriff

Ma (Ma1, Ma2/Ta) autoantibodies, autoantibodies against PNMA (paraneoplastic antigen)

Definition

Autoantikörper gegen Proteine (PNMA1, Ma1, 37 kDa; PNMA2, Ma2/Ta, 40 kDa) in den Nukleoli der Neuronenzellkerne. Siehe auch: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene.

Funktion und Pathophysiologie

Ma-Proteine werden sowohl in peripheren und zentralen Neuronen exprimiert, als auch, bei Antikörper-positiven Patienten, in Tumorgewebe.

Analytik

Autoantikörper gegen Ma können durch den indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Primaten-Gefrierschnitten von Kleinhirn und Großhirn nachgewiesen werden. Sie zeichnen sich durch eine Reaktion der Nervenzell-Nukleoli aus.

Im Linienblot rufen Ma1- und Ma2/Ta-Autoantikörper eine Reaktion mit dem rekombinanten Ma2/Ta (PNMA2)-Antigen hervor.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen Ma sind assoziiert mit Hirnstamm-Enzephalitis und limbischer Enzephalitis. Die Antikörper wie auch die klinischen Symptome können einen ersten Hinweis auf ein zugrundeliegendes Lungen-, Hoden- oder Mammakarzinom geben.

Literatur

1. Rosenfeld MR, Eichen JG, Wade DF, Posner JB, Dalmau J (2001) Molecular and clinical diversity in paraneoplastic immunity to Ma proteins. *Ann Neurol* 50(3):339-348
2. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, Honnorat J, Smitt PS, Vedeler CH, Verschuur JJ, Vincent A, Voltz R (2004) Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(8):1135-1140

Autoantikörper gegen Mi-2

Synonym(e)

Anti-Mi-2

Englischer Begriff

Anti-Mi-2, antibodies against Mi-2

Definition

Autoantikörper gegen Mi-2 binden sich an einen Mehrkomponentenkomplex des Zellkerns. Molekularbiologische Untersuchungen führten zu dem Hauptantigen mit einer Molekularmasse von 218 kDa, das Histondeacetylase- und „Nukleosomen-Remodeling“-Aktivität aufweist.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen Mi-2 zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Die Nukleoli sind teilweise ausgespart. Ausgangsverdünnung ist 1:100.

Bei einem positiven Resultat im IIFT wird zur genauen Identifizierung des Zielantigens ein geeigneter monospezifischer Immunblot mit Mi-2-Antigenen eingesetzt, die aus HeLa-Zellkernen isoliert werden.

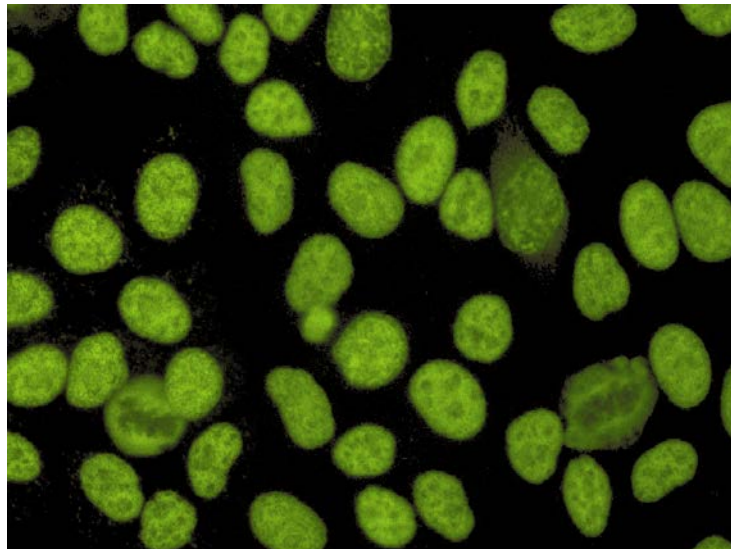


Abb. 40 Autoantikörper gegen Mi-2.
Substrat HEp-2-Zellen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Mi-2 sind serologische Marker der Dermatomyositis. Für die Prävalenz liegen Angaben zwischen 16 % und 67 % vor (Polymyositis 33 %, Myositis-Überlappungssyndrom 33 %).

Literatur

1. Meurer M, Hausmann-Martinez-Pardo G, Braun-Falco O (1989) Spectrum of antinuclear and anti-cytoplasmic antibodies in dermatomyositis and polymyositis overlap syndromes. *Hautarzt* 40(10):623-629
2. Mierau R, Genth E (1995) Diagnostische Bedeutung Sklerodermie- und Myositis-assoziiertes Autoantikörper. *Z Rheumatol* 54(1):39-49
3. Rozman B, Bozic B, Kos-Golja M, Plesivcnik-Novljan M, Kveder T (2000) Immunoserological aspects of idiopathic inflammatory muscle disease. *Wien Klin Wochenschr* 112(15-16):722-727

Autoantikörper gegen Midbody

Synonym(e)

Trennzone-Antikörper

Englischer Begriff

Midbody antibodies

Definition

Antikörper gegen den Überlappungsbereich der Spindelfasern bei der Zellteilung (Midbody, Trennzone). Zielantigen ist ein Protein mit ATPase-Aktivität, das an der Abstoßung der sich überlappenden Spindelfasern beteiligt ist. Es handelt sich um ein Doppel-Polypeptid mit einem Molekulargewicht von je 330 kDa.

Hintergrund: Während der Mitose wachsen die Spindelfasern – von den Zentriolen ausgehend – radiär in alle Richtungen, vorwiegend zur Medianebene der Zelle hin. Einige von ihnen binden sich an die Kinetochore der Chromatiden und ziehen diese während der Anaphase zum jeweiligen Zentriol hin. Die meisten Spindelfasern stellen allerdings keinen Kontakt zu den Chromosomen her, sondern treffen mit den Spindelfasern der Gegenseite zusammen. Im Überlappungsbereich erfolgt die Abstoßung und die Aufteilung der Zelle in Tochterzellen („Trennzone“).

Siehe auch Autoantikörper gegen Mitose-assoziierte Antigene.

Untersuchungsmaterial

Serum und Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest (Ausgangsverdünnung 1:100) zeigen HEp-2-Zellen bei Midbody-Antikörpern in der Metaphase der Mitose eine feinkörnige Fluoreszenz der Medianebene. Im Unterschied zum Bild bei Antikörpern gegen Zentromere bleibt diese fluoreszierende Linie bis zum Ende der Mitose in der Mitte stehen. Ihre Länge entspricht der gesamten Zellbreite in der Trennzone, und die Linie verkürzt sich zunehmend, bis in der Telophase nur noch ein fluoreszierendes Pünktchen zu sehen ist, das die Tochterzellen miteinander verbindet („Abschiedskuss“). Die Hälfte der Interphase-Zellen enthält zahlreiche gröbere fluoreszierende Tröpfchen, die übrigen Zellen sind dunkel.

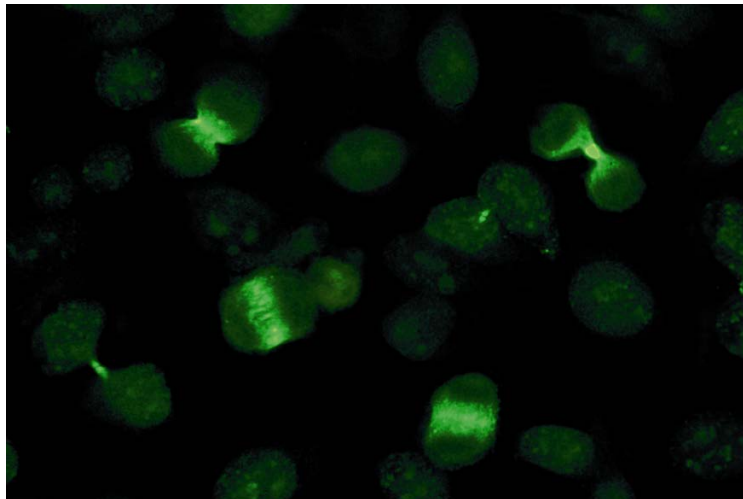


Abb. 41 Autoantikörper gegen Midbody.
Substrat HEp-2-Zellen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Die diagnostische Bedeutung dieser Antikörper ist noch nicht endgültig geklärt.

Literatur

Casiano CA, Landberg G, Ochs RL, Tan EM (1993) Autoantibodies to a novel cell cycle regulated protein that accumulates in the nuclear matrix during S phase and is localized in the kinetochores and spindle midzone during mitosis. *J Cell Sci* 106(Pt 4):1045-1056

Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA)

Synonym(e)

Mitochondrien-Antikörper, M (1-9)-Antikörper, antimitochondriale Antikörper

Englischer Begriff

Anti-mitochondrial antibodies

Definition

Autoantikörper gegen Bestandteile der Mitochondrien

Funktion

Mitochondrien enthalten viele verschiedene biochemisch definierbare Antigene, von denen einige für Autoimmunerkrankungen von Bedeutung sind – die Mitochondrien-Antigene M1 bis M9. Der wichtigste Vertreter, das M2-Antigen (AMA-M2), ist Bestandteil dreier biochemisch verwandter Multienzymkomplexe der inneren Mitochondrienmembran. Diese katalysieren die oxidative Decarboxylierung des Pyruvats, des α -Ketoglutarats und der verzweigt-kettigen α -Ketosäuren. Weitere Antigene sind M4 (Sulfitoxidase) und M9 (Phosphorylase a, eigentlich ein extramitochondriales cytoplasmatisches Enzym, es ist aber mit der Mitochondrienmembran assoziiert).

Bislang wurden vier von neun verschiedenen AMA-Typen (Antikörper gegen die Antigene M2, M4, M8 und M9) im Serum von Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) nachgewiesen. Antikörper gegen das M2-Antigen kommen bei bis zu 94 % aller PBC-Patienten vor. Ein positiver serologischer Anti-M2-Antikörper-Befund mit hohem Titer ist ein wichtiger Hinweis bei der Diagnose einer PBC und ein äußerst nützlicher Prädiktor in der Früherkennung einer PBC. Antikörper gegen M2 kommen gelegentlich auch bei Autoimmunhepatitis vor, und bei Autoimmunerkrankungen, die nicht vorrangig die Leber betreffen, wie z. B. Progressive Systemsklerose (6 %) und Sjögren-Syndrom. AMA in niedrigem Titer sind auch bei chronischer Hepatitis C und systemischem Lupus erythematodes beschrieben worden.

Die molekularen Zielantigene der Autoantikörper gegen M2 gehören zur Ketosäuredehydrogenasekomplex-Familie (2-OADH-Familie) von Enzymen in der mitochondrialen Atmungskette, einschließlich der E2-Untereinheit der verzweigt-kettigen Ketosäuredehydrogenase (BCOADH-E2), der E2-Untereinheit der Pyruvatdehydrogenase (PDH-E2), der E2-Untereinheit der 2-Ketoglutaratdehydrogenase (OGDH-E2), der E1t-Untereinheiten von PDH und des E3-Bindungsproteins (Protein X). Unter diesen Enzymkomponenten stellt die E2-Komponente der PDH das Hauptautoantigen dar, mit dem bei PBC die Mehrheit der Serumproben (80-90 %) reagiert. Zusätzlich haben 60 % der PBC-Patienten auch Antikörper gegen BCOADH-E2. Interessanterweise erkennen 4-13 % der Seren von PBC-Patienten nur BCOADH-E2 und nicht PDH-E2. Die E2-Komponente von OGDH-E2 ist in 30-80 % der Seren von PBC-Patienten reaktiv. Die immundominanten Epitope von BCOADH-E2, PDH-E2 und OGDH-E2 sind Lipoyl-bindende Bereiche, wobei gegen diese gerichtete Antikörper nicht kreuzreagieren.

Interpretation

Autoantikörper gegen Mitochondrien können bei verschiedenen Erkrankungen nachgewiesen werden. Häufig treten sie zusammen mit anderen Autoantikörpern auf, z. B. mit Autoantikörpern gegen Zellkerne.

Von besonderer Bedeutung sind Antikörper gegen Mitochondrien für die Diagnose der Primär-biliären Lebercirrhose (PBC). In Seren von PBC-Patienten wurden vier verschiedene AMA-Typen nachgewiesen: Antikörper gegen die Antigene M2, M4, M8 und M9. Antikörper gegen das M2-Antigen sind spezifische und sensitive diagnostische Marker der PBC, sie sind bei über 90 % der Patienten nachweisbar. Antikörper gegen M4 und M8 haben eine niedrigere Prävalenz und treten immer nur in Assoziation mit Antikörpern gegen M2 auf. Antikörper gegen M9 kommen vorwiegend im Frühstadium der PBC vor (82 %), wenn zum Teil (noch) keine Antikörper gegen M2 vorliegen. In solchen Fällen gehören die M9-Antikörper zu über 90 % der Klasse IgM an. Sind bereits Antikörper gegen M2 nachweisbar, beträgt die Prävalenz der M9-Antikörper nur noch 37 % (die Hälfte von diesen ausschließlich IgM). Das Vorliegen der M9-Antikörper scheint eine gute Prognose der Krankheit zu signalisieren, während Antikörper gegen M4 als Anzeichen eines ungünstigen Verlaufs angesehen werden.

Antikörper gegen	Assoziiertes Krankheitsbild	Prävalenz in %
M1	Lues (Hinweis auf Aktivität) Systemischer Lupus erythematodes Progressive Systemsklerose, Sjögren-Syndrom, Sharp-Syndrom, Rheumatoide Arthritis	100 50 5-15
M2	Primär-biliäre Lebercirrhose (hohe Titer) Andere chronische Lebererkrankungen Progressive Systemsklerose	bis zu 98 30 7-25
M3	Pseudolupus-Syndrom	100
M4	Primär-biliäre Lebercirrhose	bis zu 55
M5	Unbestimmte Kollagenosen	selten
M6	Hepatitis (Iproniazid-induziert)	100
M7	akute Myokarditis Cardiomyopathien	60 30
M8	Primär-biliäre Lebercirrhose	bis zu 55
M9	Primär-biliäre Lebercirrhose Andere Hepatitis-Formen	37-82 3-10

Hinweis:

Bei einem negativen M2-Befund und weiter bestehendem Verdacht auf eine PBC empfiehlt sich die zusätzliche Bestimmung der Antikörper gegen Kerngranula (Nuclear Dots, SP100) und Kernmembran, denen ebenfalls eine Bedeutung zuerkannt wird, siehe auch PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Analytik

Standardsubstrat zum AMA-Nachweis durch indirekte Immunfluoreszenz ist die Rattenniere. Ausgangsverdünnung des Patientenserums ist 1:100, es werden die Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM untersucht. Das Cytoplasma der proximalen und der distalen Tubuluszellen zeigt mit einem positiven Serum eine granuläre, basal betonte Fluoreszenz. Die Glomeruli werden durch AMA nur schwach angefärbt. HEp-2-Zellen enthalten die Antigene M2, M3, M5 und M9, hier erzeugen die Antikörper eine grobgranuläre Fluoreszenz des Cytoplasma, die den Kern nicht mit erfasst (früher standen die ebenfalls PBC-relevanten mitreagierenden Nuclear Dots zu Unrecht im Verdacht, es seien verirrte Mitochondrien).

AMA in einer Serumprobe können auf nahezu allen Zellsubstraten eine granuläre Fluoreszenz des Cytoplasma erzeugen. Man sollte sie nicht mit organspezifischen Autoantikörpern verwechseln!

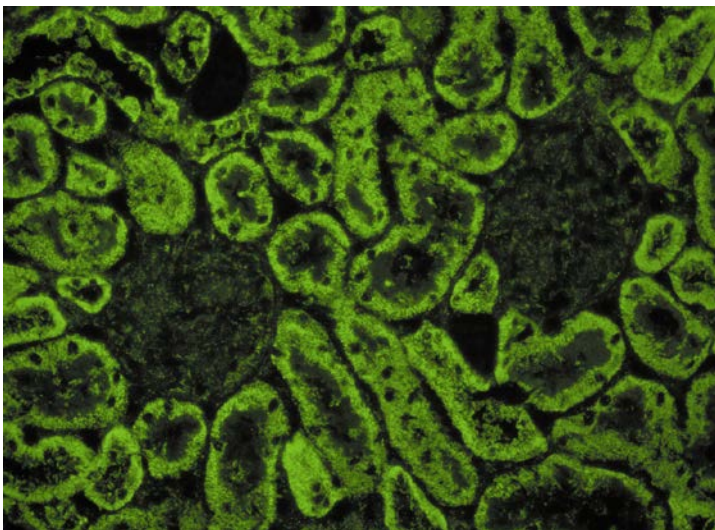


Abb. 42 Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA).
Substrat Rattenniere.

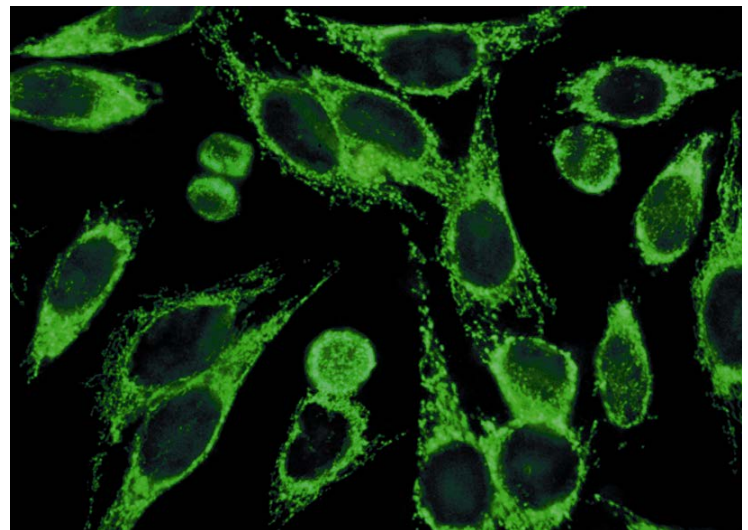


Abb. 43 Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA).
Substrat HEp-2-Zellen.

Mittels monospezifischer Testsysteme (ELISA, Westernblot) können verschiedene definierte AMA-Antigene zuverlässig identifiziert werden.

Die drei Lipoyl-bindenden Bereiche von BCOADH-E2, PDH-E2 und OGDH-E2 können mittels rekombinanter Techniken verschmolzen werden, um das künstliche BPO-Protein herzustellen, das alle relevanten Epitope enthält. Dieses Fusionsprotein in Kombination mit nativem M2 (aufgereinigtes Protein aus porcinem Pyruvatdehydrogenasekomplex) erhöht in einem monospezifischen Testsystem zur Bestimmung der Antikörper gegen M2 die Sensitivität im Vergleich zu Testsystemen, die nur natives M2 verwenden. Ein ELISA mit rekombinantem BPO-Antigen erbringt eine Sensitivität für die PBC von 93 %, mit der AMA-Bestimmung durch indirekte Immunfluoreszenz erhält man nur 88 %. Darüber hinaus weist dieser ELISA auch eine wesentlich höhere Spezifität auf: 98 % im Vergleich zu etwa 80 % bei der Immunfluoreszenz. Die IFT kann somit für die PBC-Diagnostik als überholt betrachtet werden.

Referenzbereich

Negativ

Literatur

1. Berg PA, Klein R (1992) Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis and other disorders: Definition and clinical relevance. *Dig Dis* 10(2):85-101
2. Jiang XH, Zhong RQ, Yu SQ, Hu Y, Li WW, Kong XT (2003) Construction and expression of a humanized M2 autoantigen trimer and its application in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *World J Gastroenterol* Jun 9(6):1352-1355
3. Dähnrich C, Pares A, Caballeria L, Rosemann A, Schlumberger W, Probst C, Mytilinaiou M, Bogdanos D, Vergani D, Stöcker W, Komorowski L (2009) New ELISA for detecting primary biliary cirrhosis-specific antimitochondrial antibodies. *Clin Chem* May;55(5):978-985

Autoantikörper gegen Mitose-assoziierte Antigene

Englischer Begriff

Autoantibodies to mitosis associated antigens

Definition

Autoantikörper gegen Strukturen, die vorwiegend in der Mitosephase des Zellzyklus vorkommen oder ihre Funktion ausüben. Zu diesen Antigenen gehören:

- MSA-1 (Mitosespindel-Apparat, Antigen 1, siehe Spindelapparat (unzweckmäßige Bezeichnung: NuMa)),
- MSA-2 (Mitosespindel-Apparat, Antigen 2, siehe Spindelapparat (HsEg5)),
- Midbody (siehe dort),
- CENP-F (Mitosin, siehe dort),
- Zentriolen (siehe dort),
- Zentromere (siehe dort).

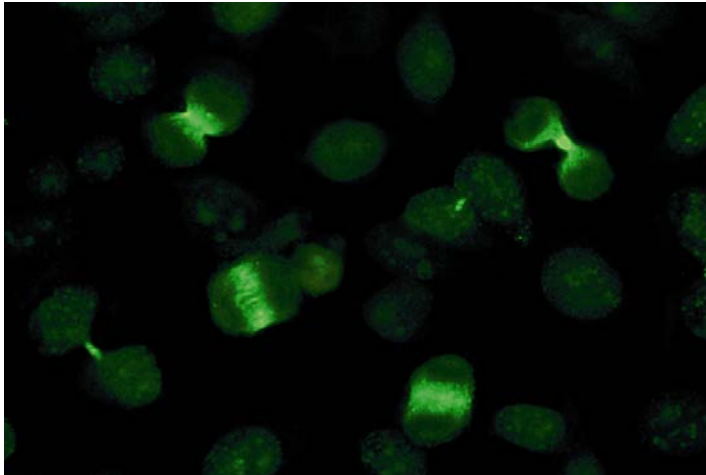


Abb. 44 Autoantikörper gegen Mitose-spezifische Antigene.
Substrat HEp-2-Zellen.

Autoantikörper gegen Mup44

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Skelettmuskelprotein 44 kDa (Mup44), Anti-Mup44-Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against skeletal muscle antigen of 44 kDa (Mup44), anti-Mup44 autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen Skelettmuskelantigen 44 kDa sind spezifische Marker für die sporadische Einschlusskörpermyositis (sporadic inclusion body myositis; sIBM).

Funktion und Pathophysiologie

Die Funktion und Pathophysiologie der Autoantikörper gegen Mup44 ist bislang nicht beschrieben.

Analytik

Autoantikörper gegen Mup44 lassen sich mit Enzymimmuntests (Zielantigen: aufgereinigte humane Skelettmuskelextrakte) oder durch indirekte Immunfluoreszenz (Antigen-Substrat: rekombinante HEK-293-Zellen) bestimmen.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Diagnostische Wertigkeit

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen Mup44 ist von besonderer Bedeutung für die Diagnose der sporadischen Einschlusskörpermyositis, da es sich hierbei um den bislang einzigen spezifischen Biomarker handelt. Die Prävalenz der Anti-Mup44-Autoantikörper bei sIBM-Patienten liegt bei 27 % (Dermatomyositis 0 %, Polymyositis 2 %).

Literatur

Pluk H, van Engelen BG, Pruijn GJM (2011) Anti-Mup44: the first inclusion body myositis-specific autoantibody. In: Conrad K et al. (Hrsg.). From prediction to prevention of autoimmune diseases: Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity. Pabst Science Publishers, 867

Autoantikörper gegen MuSK

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Muskel-spezifische Tyrosinkinase (MuSK)

Englischer Begriff

Autoantibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK.

Definition

MuSK ist ein transmembranöses, mit dem Acetylcholinrezeptor assoziiertes Protein der neuromuskulären Verbindung (motorische Endplatte).

Funktion und Pathophysiologie

Die Funktion der Muskel-spezifischen Tyrosinkinase ist noch weitgehend unklar. Wahrscheinlich spielt MuSK eine Rolle bei der Vermittlung der Agrin-Wirkung auf die Aggregation des Acetylcholinrezeptors. Die bei Myasthenia gravis auftretenden Autoantikörper gegen MuSK sind gegen das extrazelluläre N-terminale Ende der MuSK gerichtet.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Die Bestimmung erfolgt ausschließlich mittels Radiorezeptorassays (RRA).

Referenzbereich — Frauen

Referenzbereich: <0,05nmol/l

Referenzbereich — Männer

Referenzbereich: <0,05nmol/l

Referenzbereich — Kinder

Referenzbereich: <0,05nmol/l

Indikation

Myasthenia gravis (okuläre und generalisierte Form), insbesondere wenn keine Antikörper gegen Acetylcholinrezeptoren (ACHRAB) nachweisbar sind.

Interpretation

Die Myasthenia gravis, eine neuromuskuläre Autoimmunerkrankung, ist häufig mit dem Nachweis von Autoantikörpern gegen Acetylcholinrezeptoren (ACHRAB) im Blut assoziiert. Bei 10-20 % der Patienten mit einer generalisierten Myasthenia gravis sind diese jedoch nicht nachweisbar (bislang sogenannte seronegative Myasthenie). In zirka 40-70 % der Myasthenie-Fälle ohne ACHRAB werden Antikörper gegen MuSK gefunden. Zusammen mit den ACHRAB lassen sich mehr als 90 % der Myasthenie-Patienten serologisch erfassen.

Literatur

1. Vincent A, Bowen J, Newsom-Davis J, McConville J (2003) Seronegative generalised myasthenia gravis: clinical features, antibodies, and their targets. *Lancet Neurol* 2(2):99-106
2. Hoch W, McConville J, Helms S, Newsom-Davis J, Melms A, Vincent A (2001) Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. *Nat Med* 7(3):365-368

Autoantikörper gegen Myelin

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Myelin

Englischer Begriff

Antibodies to myelin

Definition

Autoantikörper gegen Myelin der Nervenscheiden markhaltiger Nerven sollen mit neurologischen Erkrankungen, insbesondere Multipler Sklerose, assoziiert sein. Siehe auch Autoantikörper gegen Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG), Myelin-basisches Protein und Myelin-Oligodendrocyten-Glycoprotein.

Pathophysiologie

Myelin ist in der Schwann'schen Scheide lokalisiert, die eine Isolationsschicht um die markhaltigen Nerven bildet. Antikörper gegen Myelin wurden von manchen Untersuchern bei Multipler Sklerose und anderen neurologischen Erkrankungen beschrieben, sie finden sich aber in gleicher Häufigkeit auch bei gesunden Vergleichspersonen.

Untersuchungsmaterial

Serum

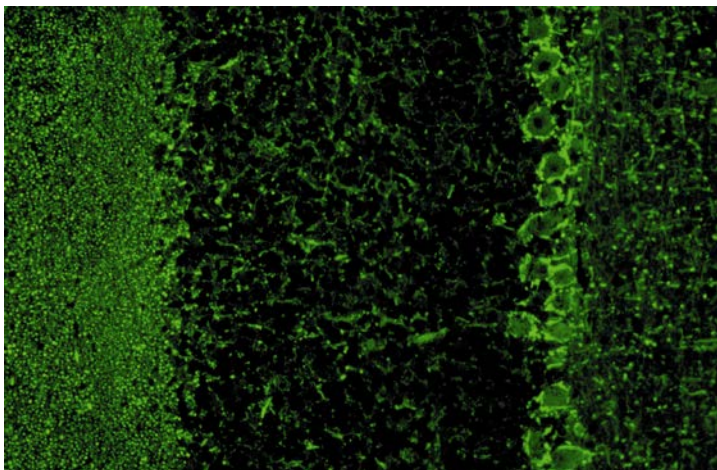
Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

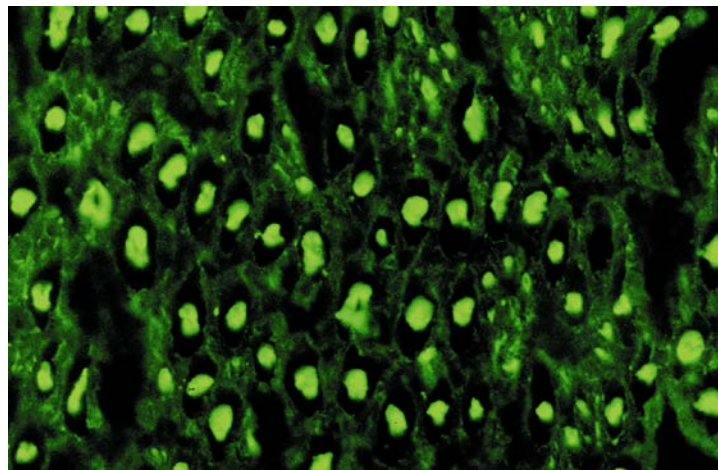
Analytik

Zur Untersuchung der Antikörper gegen Myelin ist die indirekte Immunfluoreszenz geeignet. Dabei dienen Gefrierschnitte der Primatengewebe (N. suralis) und Kleintiernerven als Standardsubstrate. Die Ausgangsverdünnung der Patientenserum beträgt 1:10.

Autoantikörper gegen Myelin stellen sich als hyalin fluoreszierende Zylinder dar, in denen manchmal das dunkel erscheinende Axon erkennbar ist.



**Abb. 45 Autoantikörper gegen Myelin.
Substrat Primatenkleinhirn.**



**Abb. 46 Autoantikörper gegen Myelin.
Substrat Primatennerv.**

Bewertung

Der diagnostische Wert dieser Serum-Antikörper ist umstritten, da hohe Titer auch bei gesunden Personen vorkommen. Die Vermutung, dass die durch indirekte Immunfluoreszenz erfassbaren Myelin-Antikörper mit der Multiplen Sklerose assoziiert sind, konnten eigene Untersuchungen mit 500 Patienten nicht bestätigen.

Literatur

Genain CP, Cannella B, Hauser SL, Raine CS (1999) Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nature Med* 5(2):170-175

Autoantikörper gegen Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG)

Synonym(e)

Autoantikörper gegen MAG, Anti-MAG

Englischer Begriff

Antibodies to myelin-associated glycoprotein

Definition

Gegen Myelin-assoziiertes Glykoprotein der Schwann'schen Scheide gerichtete Autoantikörper, deren Präsenz mit Erkrankungen des peripheren Nervensystems assoziiert ist.

Funktion und Pathophysiologie

Myelin-assoziiertes Glykoprotein (MAG) ist ein 100 kDa großes integrales Membranprotein aus der Familie Neuraminsäure-bindender Lektine. Das Protein hat einen Kohlenhydratanteil von 30 %. Als Adhäsionsmolekül vermittelt MAG die Interaktion zwischen den Zellen. Im Tierversuch ruft die Injektion von Anti-MAG-Antikörpern eine lokale Demyelinisierung hervor.

Untersuchungsmaterial

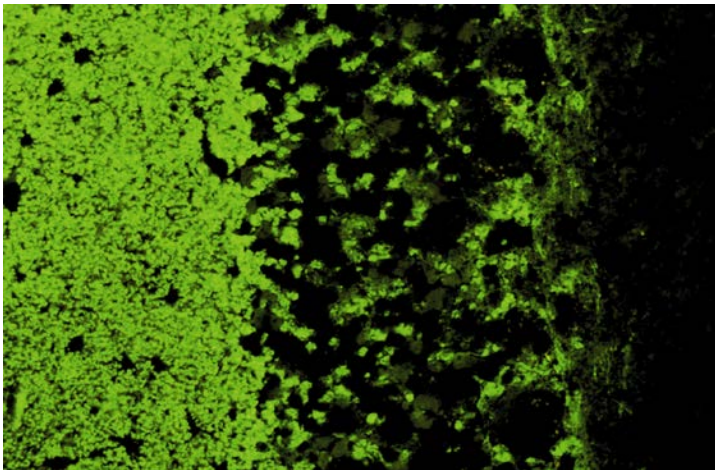
Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

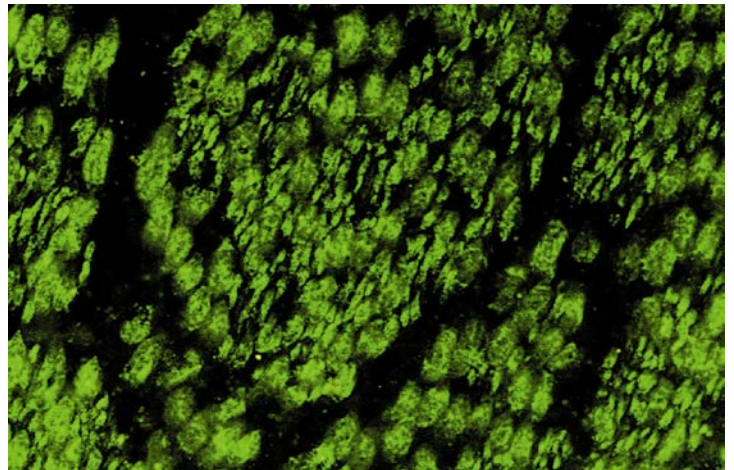
Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen MAG werden durch indirekte Immunfluoreszenz nachgewiesen, mit peripheren markhaltigen Nerven und Kleinhirn von Primaten als Antigen-Substraten. Bei der Reaktion mit Nerven rufen sie eine streifige Fluoreszenz hervor, die sich gut vom Bild der diagnostisch weniger relevanten Myelin-Antikörper unterscheidet. Im Kleinhirn ist vor allem die weiße Substanz vollflächig angefärbt.



**Abb. 47 Autoantikörper gegen MAG.
Substrat Primatenkleinhirn.**



**Abb. 48 Autoantikörper gegen MAG.
Substrat Primatennerv.**

Außerdem sind für den Anti-MAG-Nachweis auch ELISA und Western-Blot-Techniken geeignet.

Es werden Antikörper der Klassen IgG und IgM untersucht, die IgM-Reaktion ist meist monoklonal (Paraprotein) und richtet sich gegen Epitope des Kohlenhydratanteils.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Antikörper gegen MAG werden bei jedem Verdacht auf eine periphere demyelinisierende Neuropathie untersucht. Typisch sind symmetrische distale Sensibilitäts- und Motorikstörungen mit elektroneurographischen Auffälligkeiten, die auf Demyelinisierung bzw. Axon-Degeneration deuten.

Diagnostische Wertigkeit

Anti-MAG-Autoantikörper können bei der Hälfte aller Patienten mit IgM-Gammopathie-assoziiierter peripherer Neuropathie nachgewiesen werden. Verbunden damit sind Muskelatrophien, Paresen, Ataxie und Intentionstremor.

Auch beim Guillain-Barré-Syndrom sind zuweilen Autoantikörper gegen MAG nachweisbar. Die Krankheit ist durch multifokale Entzündungen mit Zellinfiltrationen in den Myelinscheiden peripherer Nerven und in den Spinalganglien charakterisiert. Klinische Symptome sind Störungen der Sensibilität und der Motorik, beginnend mit einer Reflexabschwächung in den Beinen, im weiteren Verlauf kommt es zu Lähmungserscheinungen bis hin zu Tetraplegie und Atemlähmung.

Literatur

Jaskowski TD, Martins TB, Litwin CM, Hill HR (2004) Immunoglobulin (Ig)M antibody against myelin associated glycoprotein (MAG): A comparison of methods. J Clin Lab Anal 18(4):247-50

Autoantikörper gegen Myelin-Oligodendrocyten-Glykoprotein

Synonym(e)

Antikörper gegen MOG, Anti-MOG-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies against myelin oligodendrocyte glycoprotein, anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies, anti-MOG antibodies

Definition

Autoantikörper gegen ein integrales Membranprotein des ZNS-Myelins. MOG wird ausschließlich in myelinisierenden Oligodendrocyten exprimiert. Es ist in der Oligodendrocyten-Plasmamembran und auf der extrazellulären Seite der äußersten Myelinlamelle lokalisiert, fehlt aber weitgehend im kompakten Myelin. Sein Anteil am gesamten Myelinprotein beträgt 0,01-0,05 %.

Funktion und Pathophysiologie

Bei der Entstehung entzündlicher demyelinisierender Erkrankungen des ZNS wird Antikörpern gegen MOG eine mögliche immunpathogene Rolle zugeschrieben bzw. MOG als ein relevantes Zielantigen autoreaktiver T- und B-Zellen angesehen. Das Potential von Anti-MOG-Antikörpern zur Induktion der Demyelinisierung wurde an Hirnzellkulturen und im Tiermodell für autoimmune Enzephalomyelitis demonstriert.

Analytik

Die Bestimmung von Anti-MOG-Antikörpern sollte mit Testsystemen erfolgen, die MOG mit authentischer, membranständiger Konformation und nativer Glykosylierung als Antigen substrat verwenden. Geeignet ist der indirekte Immunfluoreszenztest mit MOG-transfizierten HEK-293-Zellen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Anti-MOG-Antikörper werden bei einem Teil der Patienten mit Entmarkungserkrankungen des ZNS gefunden, insbesondere in pädiatrischen Fällen. Dazu gehören die akute disseminierte Enzephalomyelitis (ADEM), die Multiple Sklerose (MS) und das „klinisch isolierte (episodische, demyelinisierende) Syndrom“. Des Weiteren finden sich die Antikörper bei Anti-AQP4-negativen Patienten mit NMO-Spektrum-Erkrankungen (Optikusneuritis und/oder longitudinale extensive transverse Myelitis).

Literatur

1. Lalive PH, Menge T, Delarasse C, Della Gaspera B, Pham-Dinh D, Villoslada P, von Büdingen HC, Genain CP (2006) Antibodies to native myelin oligodendrocyte glycoprotein are serologic markers of early inflammation in multiple sclerosis. *PNAS* 103(7):2280-2285
2. Brilot F, Dale RC, Selter RC, Grummel V, Kalluri SR, Aslam M, Busch V, Zhou D, Cepok S, Hemmer B (2009) Antibodies to native myelin oligodendrocyte glycoprotein in children with inflammatory demyelinating central nervous system disease. *Ann Neurol* 66(6):833-842
3. McLaughlin KA, Chitnis T, Newcombe J, Franz B, Kennedy J, McArdel S, Kuhle J, Kappos L, Rostasy K, Pohl D, Gagne D, Ness JM, Tenenbaum S, O'Connor KC, Vigiotta V, Wong SJ, Tavakoli NP, de Seze J, Idrissova Z, Houry SJ, Bar-Or A, Hafler DA, Banwell B, Wucherpfennig KW (2009) Age-dependent B cell autoimmunity to a myelin surface antigen in pediatric multiple sclerosis. *J Immunol* 183(6):4067-4076
4. Di Pauli F, Mader S, Rostasy K, Schanda K, Bajer-Kornek B, Ehling R, Deisenhammer F, Reindl M, Berger T (2011) Temporal dynamics of anti-MOG antibodies in CNS demyelinating diseases. *Clin Immunol* 138(3):247-254
5. Pröbstel AK, Dornmair K, Bittner R, Sperl P, Jenne D, Magalhaes S, Villalobos A, Breithaupt C, Weissert R, Jacob U et al. (2011) Antibodies to MOG are transient in childhood acute disseminated encephalomyelitis. *Neurology* 77(6):580-588
6. Kitley J, Woodhall M, Waters P, Leite MI, Devenney E, Craig J, Vincent A, Palace J (2011) Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-mediated acute inflammatory demyelinating disease mimicking neuromyelitis optica. Abstract: 5th Joint triennial congress of the European and Americas Committees for treatment and research in multiple sclerosis, Amsterdam, The Netherlands.

Autoantikörper gegen Myeloperoxidase

Synonym(e)

Myeloperoxidase-Antikörper, Anti-MPO-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies to myeloperoxidase

Definition

Autoantikörper gegen die Peroxidase der Granulocyten und Monocyten (Myeloperoxidase)

Molmasse

Molekulargewicht 120 kDa

Funktion und Pathophysiologie

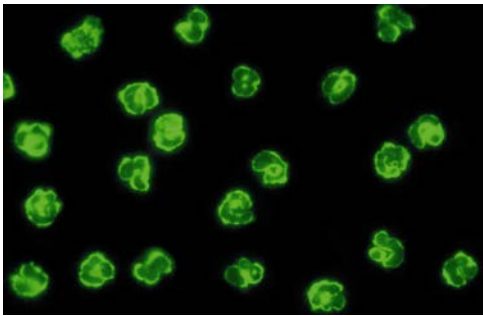
Eine mögliche pathogenetische Rolle der Antikörper wird kontrovers diskutiert. Möglicherweise können die Antikörper zu einer Freisetzung lysosomaler Granula aus Granulocyten führen und damit einen vaskulitischen Entzündungsprozess in Gang setzen.

Probenstabilität

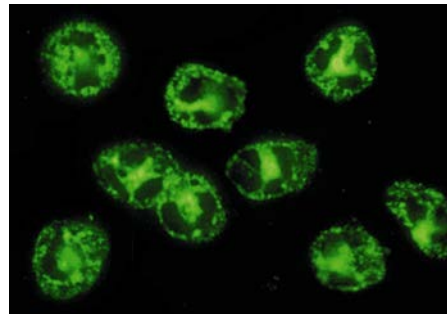
Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu 2 Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

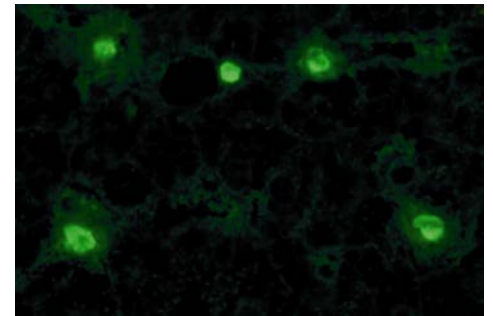
Die Diagnostik der Autoantikörper gegen neutrophile Granulocyten (ANCA) stützt sich primär auf den indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT), sie wird durch monospezifische ELISA und Immunblots sinnvoll ergänzt. Standardsubstrate für die Immunfluoreszenz sind Ethanol- und Formaldehyd-fixierte humane Granulocyten. Ethanol-fixierte Granulocyten zeigen mit Anti-MPO ein bandförmiges perinukleäres Muster, seltener auch, bei hoher Avidität, eine granuläre Cytoplasmafluoreszenz. Nach Formalin-Behandlung der Granulocyten erhält man ein rein cytoplasmatisches körniges Muster, wie bei Antikörpern gegen Proteinase 3. Methanol-fixierte Granulocyten reagieren nicht mit Anti-MPO, aber mit den meisten anderen Subspezifitäten, was man differentialdiagnostisch nutzen kann. Serum-Ausgangsverdünnung ist 1:10, man untersucht die Immunglobulinklassen IgA und IgG.



**Abb. 49 Autoantikörper gegen MPO.
Substrat humane Granulocyten (Ethanol-fixiert).**



**Abb. 50 Autoantikörper gegen MPO.
Substrat humane Granulocyten (Formaldehyd-fixiert).**



**Abb. 51 Autoantikörper gegen MPO.
Substrat Primatenleber.**

Das bandförmige perinukleäre Fluoreszenzmuster der pANCA entsteht dadurch, dass die Antigene während der Inkubation mit dem Patientenserum aus den Granula an die Kernmembran diffundieren, zu der sie (wie auch zur Zellwand der Bakterien) eine hohe Affinität besitzen. (Früher wurde zu Unrecht behauptet, die Fixation mit Ethanol führe zu dieser zellulären Umverteilung: Dagegen spricht, dass Formaldehyd-fixierte Granulocyten auch dann mit Anti-MPO ein cANCA-Muster zeigen, wenn sie zuvor mit Ethanol fixiert wurden).

Zielantigene der pANCA sind Myeloperoxidase (MPO), Granulocyten-Elastase, Laktoferrin, Lysozym, Kathepsin G, β -Glucuronidase, Azurocidin, h-lamp-2, α -Enolase und Defensin. Myeloperoxidase ist das Hauptzielantigen der pANCA, doch stellen sich nicht alle pANCA positiv im Anti-MPO-ELISA dar. Enzymimmuntests basieren auf nativer Myeloperoxidase, die aus humanen Granulocyten isoliert wird.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Mikroskopische Polyangiitis, rapid-progressive Glomerulonephritis, andere Vaskulitis-Formen.

Diagnostische Wertigkeit

pANCA, die durch Antikörper gegen Myeloperoxidase induziert werden, sind hauptsächlich mit mikroskopischer Polyangiitis (Prävalenz ca. 60 %) und pauci-immuner nekrotisierender Glomerulonephritis (Prävalenz 65-90 %) assoziiert. Daneben treten Autoantikörper gegen Myeloperoxidase bei klassischer Polyarteriitis nodosa und Churg-Strauss-Syndrom auf. Sehr selten kommen MPO-ANCA bei systemischem Lupus erythematoses und rheumatoider Arthritis vor.

Literatur

Gross WL (1995) Antineutrophil cytoplasmic autoantibody testing in vasculitides. Rheum Dis Clin North Am 21(4):987-1011

Autoantikörper gegen Nebennierenrinde

Synonym(e)

Nebennierenrinden-Antikörper, Anti-NNR-Autoantikörper, Antikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen der Nebennierenrinde

Englischer Begriff

Adrenal gland autoantibodies

Funktion und Pathophysiologie

Autoantikörper gegen die Nebennierenrinde sind mit der Autoimmunadrenatitis assoziiert. Diese trägt zu mehr als der Hälfte der Fälle mit Morbus Addison bei (primäre Nebennierenrinden-Insuffizienz, gekennzeichnet durch einen Mangel an Nebennierenrindenhormonen: Glucocorticoiden, Mineralocorticoiden).

Die Antikörper sind hauptsächlich gegen das an der Synthese der Steroidhormone beteiligte Enzym 21-Hydroxylase gerichtet (21-OH). Dieses wandelt 17- α -Progesteron und Progesteron in 11-Desoxycortisol und Desoxycorticosteron um.

Untersuchungsmaterial

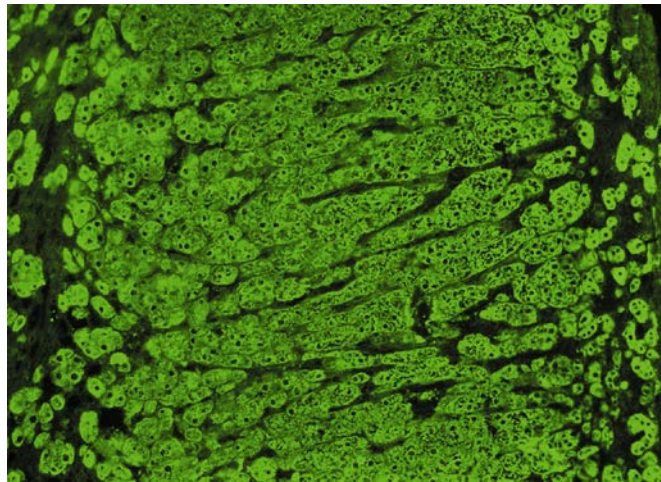
Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen die Nebennierenrinde können durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt werden. Bei einer Ausgangsverdünnung eines positiven Serums von 1:10 zeigt das Cytoplasma der Steroidhormon-produzierenden Zellen im Bereich des Cortex eine granuläre bis glatte Fluoreszenz, das Nebennierenmark wird nicht mit angefärbt. Im Allgemeinen reagieren alle drei Zonen der Nebennierenrinde mehr oder weniger gleichmäßig: Zonae glomerulosa, fasciculata, reticularis. Die manchmal zu beobachtende Betonung der Zonae glomerulosa und reticularis ist meistens technisch bedingt, da diesen Bereichen zusätzliche Antikörper aus der Nachbarschaft zukommen.



**Abb. 52 Autoantikörper gegen Nebennierenrinde.
Substrat Nebenniere, Prim.**

Der Einsatz einer Substratkombination aus Nebenniere und Rattenniere ermöglicht eine sichere Abgrenzung zu Antikörpern gegen Mitochondrien (AMA) im gleichen Testansatz.

Diagnostische Wertigkeit

Die Prävalenz der Autoantikörper gegen Nebennierenrinde liegt zu Beginn der Autoimmunadrenatitis bei über 80 %. Mit zunehmender Atrophie der Nebennieren verschwinden die Antikörper, dann weisen manchmal nur noch Antikörper gegen Belegzellen des Magens, Schilddrüsen-spezifische Peroxidase oder gegen andere endokrine Organe, die oft mit Autoimmunadrenatitis assoziiert sind, auf die Autoimmunpathogenese des M. Addison hin. Die Bestimmung der Anti-NNR-Antikörper kann zur differentialdiagnostischen Abgrenzung gegen die übrigen möglichen Ursachen des M. Addison beitragen: Tuberkulose der Nebennieren, Waterhouse-Friderichsen-Syndrom (Nekrose der Nebennieren vor allem infolge einer Meningokokkensepsis) und andere.

Anti-NNR-Antikörper können auch Erkennungsmerkmal der Krankheitsbilder aus dem Kreis der Autoimmun-Polyendokrinopathien sein, diese sind charakterisiert durch die Assoziation mindestens zweier endokriner Erkrankungen und das Vorliegen eines oder mehrerer Autoantikörper gegen endokrine Organe sowie gegen Belegzellen

des Magens und gegen quergestreifte Muskeln. Beim Typ I (juvenile autoimmune Polyendokrinopathie) treten zusätzlich zur Nebennierenrinden-Insuffizienz Hypoparathyreoidismus und zumeist Perniziöse Anämie sowie eine mukokutane Candidiasis auf. Der häufigere Typ II ist gekennzeichnet durch eine Nebennierenrinden-Insuffizienz in Kombination mit Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse (Schmidt-Syndrom) sowie fallweise zusätzlich mit Diabetes mellitus Typ I (Carpenter-Syndrom).

Literatur

1. Anderson JR, Goudie RB, Gray KG, Timbury GC (1957) Autoantibodies in Addison's disease. *Lancet* 272:1123-1124
2. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R (2002) Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: Autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev* 23(4):327-364

Autoantikörper gegen Nebenschilddrüse

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Epithelkörperchen

Englischer Begriff

Parathyroid gland autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen Nebenschilddrüse kommen bei idiopathischem Hypoparathyreoidismus und in Kombination mit anderen Autoantikörpern auch bei Polyendokrinopathie vor.

Funktion und Pathophysiologie

Bei einem Teil der Patienten mit idiopathischem Hypoparathyreoidismus findet man im Serum Autoantikörper (überwiegend der Klasse IgG) gegen die Nebenschilddrüse. Das Vorliegen dieser Autoantikörper belegt die Autoimmun-Pathogenese bei diesen Patienten, kann aber auch Hinweis auf eine Autoimmun-Polyendokrinopathie sein.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen Zellen der Nebenschilddrüse durch indirekte Immunfluoreszenz werden Gefrierschnitte der Glandula parathyroidea von Primaten als Standardsubstrat verwendet. Bei einem positiven Ergebnis zeigen die Hauptzellen und (hervorgehoben) die oxyphilen Zellen der Nebenschilddrüse eine glatte bis feingranuläre Fluoreszenz. Mit einer parallel eingesetzten Rattenniere erfolgt eine sichere Abgrenzung zu Antikörpern gegen Mitochondrien (AMA). Bei einer Ausgangsverdünnung des Serums von 1:10 werden Autoantikörper der Klassen IgA, IgG und IgM erfasst.

Als Antigen-Substrat eignet sich humanes Adenomgewebe, dessen Funktionsfähigkeit allerdings zuerst mit positiven Patientenserum und einer ausreichenden Anzahl negativer Kontrollen überprüft werden muss.

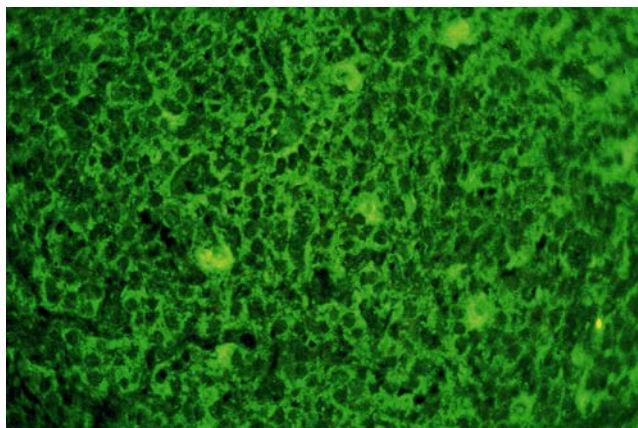


Abb. 53 Autoantikörper gegen Epithelkörperchen.
Substrat Nebenschilddrüse, Prim.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Interpretation

Antikörper gegen die Nebenschilddrüse weisen auf einen idiopathischen Hypoparathyreoidismus hin, gegebenenfalls in Verbindung mit einer Autoimmun-Polyendokrinopathie Typ I (Hypoparathyreoidismus, Nebennierenrinden-Insuffizienz und Perniziöse Anämie sowie mukokutane Candidiasis).

Literatur

Eisenbarth GS, Gottlieb PA (2004) Autoimmune polyendocrine syndromes. N Engl J Med 350(20):2068-2079

Autoantikörper gegen Nierentubulus-Basalmembran

Synonym(e)

Autoantikörper gegen die Basalmembran der Nierentubuli

Englischer Begriff

Antibodies against the tubular basement membrane

Definition

Antikörper gegen Antigene der Nierentubuli-Basalmembran.

Untersuchungsmaterial

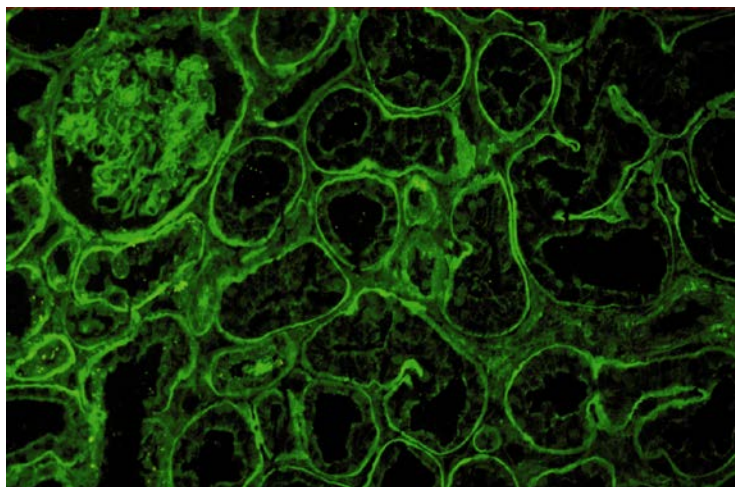
Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Primatenniere (Ausgangsverdünnung 1:10) zeigt die tubuläre Basalmembran im positiven Fall überwiegend im Bereich der proximalen Nierentubuli eine lineare Fluoreszenz. Die Glomeruli bleiben negativ.



**Abb. 54 Autoantikörper gegen Nierentubulus-Basalmembran.
Substrat Primatenniere.**

Auch Seren von Patienten mit Goodpasture-Syndrom und Antikörpern gegen die glomeruläre Basalmembran (GBM) reagieren in einigen Fällen mit der Basalmembran eines Teils der Tubuli, zusätzlich zur Anfärbung der GBM.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Antikörper gegen die tubuläre Basalmembran können bei verschiedenen Formen der Nephritis einschließlich Abstoßungsreaktionen nach Transplantation gefunden werden und helfen differentialdiagnostisch bei tubulo-interstitiellen Erkrankungen.

Literatur

Stebly RW, Rudofsky U (1971) Renal tubular disease and autoantibodies against tubular basement membrane induced in guinea pigs. J Immunol 107(2):589-594

Autoantikörper gegen Nukleoli

Synonym(e)

Antinukleoläre Antikörper

Englischer Begriff

Antinucleolar autoantibodies

Definition

Antinukleoläre Antikörper sind eine Untergruppe der antinukleären Antikörper (ANA), erstere sind gegen Antigene der Nukleoli gerichtet. Antigene des Nukleolus: U3-(n)RNP/Fibrillarin, RNS-Polymerase I, PM-Scl (PM-1), 7-2-RNP (To), 4-6-S-RNS, Nukleolus-Organisator

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antinukleoläre Antikörper zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen je nach Zielantigen eine **granuläre** (U3-nRNP/Fibrillarin), eine **feintropfige** (RNS-Polymerase I), eine **homogene** (PM-Scl (PM-1), 7-2-RNP (To), 4-6-S-RNS) oder eine **punktförmige** (NOR-90 Nukleolus-Organisatorregion) Fluoreszenz der Nukleoli. NOR-90-Antikörper zeigen zusätzlich eine besonders auffällige grobpunktige Fluoreszenz in der Chromosomenregion der Metaphase-Zellen.

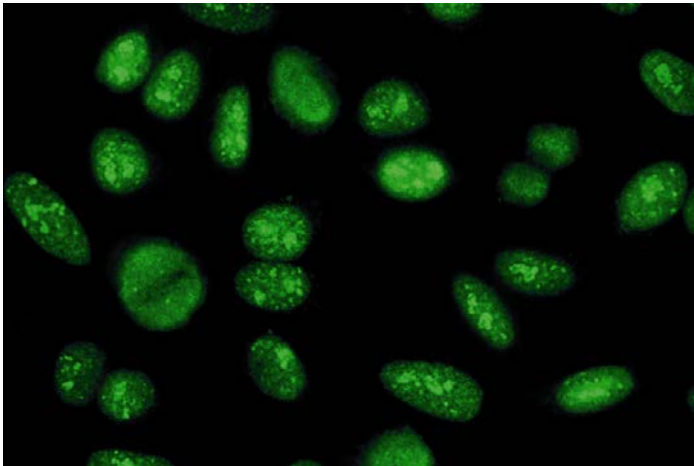


Abb. 55 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-Fibrillarin).
Substrat HEp-2-Zellen.

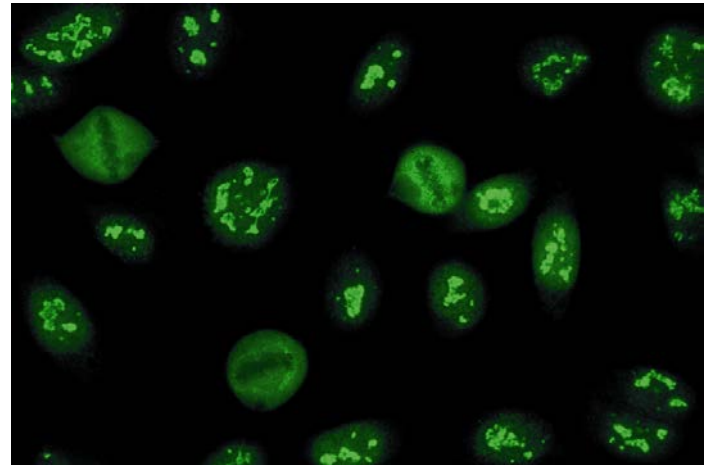


Abb. 56 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-RNS-Polymerase I).
Substrat HEp-2-Zellen.

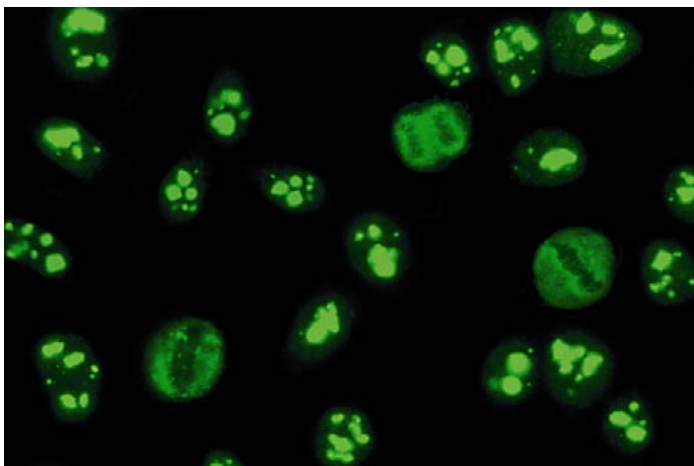


Abb. 57 Autoantikörper gegen Nukleoli (Anti-PM-Scl).
Substrat HEp-2-Zellen.

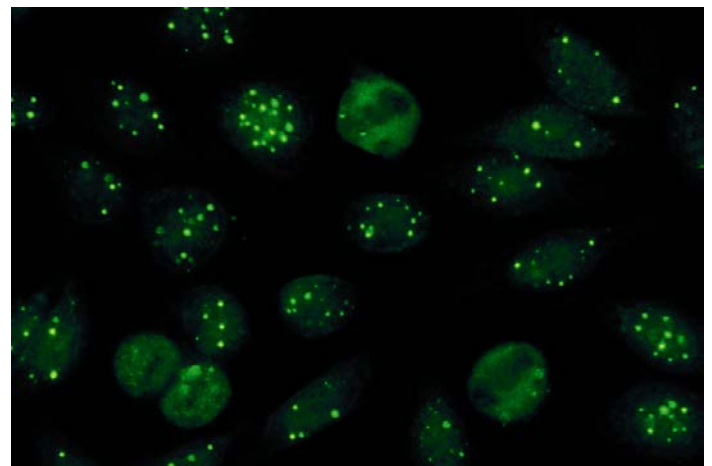


Abb. 58 Autoantikörper gegen Nukleoli.
Zusätzlich Autoantikörper gegen den Nukleolus-Organisator, NOR (Anti-NOR: Grobe Granula im Zentrum der Metaphase-Zellen).
Substrat HEp-2-Zellen.

Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur genauen Identifizierung des Zielantigens ein monospezifischer Test (ELISA, Linienblot) mit aufgereinigten, gegebenenfalls rekombinanten Antigenen oder ein Westernblot mit Zellkern-Antigenen eingesetzt werden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Antinukleoläre Antikörper im Serum von Patienten sind ein charakteristischer Befund bei der Progressiven Systemsklerose (diffuse Form).

Antikörperprävalenz bei Progressiver Systemsklerose (diffuse Form):

Antigen	Prävalenz in %
Fibrillarin	5-10
PM-Scl	50-70 (einschließlich Overlap-Syndrom)
Scl-70 (Zellkernantigen, nicht beschränkt auf die Nukleoli)	25-75
RNS-Polymerase I	4
7-2-RNP (To)	selten
NOR-90 (Nukleolus-Organisatorregion)	selten

Literatur

Schlumberger W, Olbrich S, Müller-Kunert E, Stöcker W (1994) Autoantikörper-Diagnostik mit der Substratkombination Humane Epithelzellen (HEp-2) und Primatenleber. Differenzierung der Antikörper durch Enzymimmuntests. Eigenverlag der EUROIMMUN AG, Lübeck, Deutschland:1-28

Autoantikörper gegen Nukleosomen

Synonym(e)

Nukleosomen-Antikörper, Anti-Nukleosomen-Antikörper, ANuA

Englischer Begriff

autoantibodies to nucleosomes

Funktion und Pathophysiologie

Nukleosomen sind funktionelle Untereinheiten der Chromosomen und tragen zur dichten Packung der DNS im Zellkern bei. Sie bestehen aus einem Kern, der von den Histonproteinen H2A, H2B, H3 und H4 gebildet wird, und aus zwei Windungen DNS (zusammen 146 Basenpaare), die den Histon-Anteil umgeben. Zwischen zwei Nukleosomen befindet sich ein Bereich freier DNS (sog. Linker-DNS), der mit dem Histon H1 assoziiert ist.

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Antikörper gegen Nukleosomen werden mit Enzymimmuntests bestimmt, deren Antigen-Beschichtung aus hoch aufgereinigten Nukleosomen besteht. Die Nukleosomen dürfen nicht mit DNS-Topoisomerase I verunreinigt sein, dem Autoantigen Scl-70, das eine hohe Affinität zu Nukleosomen besitzt.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Systemischer Lupus erythematodes (SLE)

Diagnostische Wertigkeit

Der systemische Lupus erythematodes (SLE) ist gekennzeichnet durch das Auftreten verschiedener antinukleärer Antikörper (ANA): Autoantikörper gegen Doppelstrang DNS (dsDNS), Sm und Ribosomales P-Protein sind z. B. spezifische und sensitive Marker für SLE. Darüber hinaus können bei SLE Autoantikörper gegen Nukleosomen (ANuA) mit einer Prävalenz von 40-70 % nachgewiesen werden, je nach Krankheitsaktivität. Ihre Relevanz als charakteristischer Krankheitsmarker für SLE war jedoch bislang dadurch eingeschränkt, dass mit konventionell präparierten Nukleosomen auch 10-68 % der Seren von Sklerodermie-Patienten reagierten. Verwendet man als ELISA-Antigen eine Präparation von Mononukleosomen, die frei von H1, Scl-70 und anderen nicht-Histon-Proteinen ist, unterbleiben die falsch-positiven Reaktionen der Sklerodermie-Seren. Werden ANuA zusätzlich zu Autoantikörpern gegen dsDNS bestimmt, kann die serologische Trefferquote in der SLE-Diagnostik um 15-20 % gesteigert werden.

Autoantikörper gegen Nukleosomen treten unabhängig von Anti-dsDNS-Antikörpern auf: 18 % der SLE-Seren reagierten ausschließlich mit Nukleosomen und nicht mit dsDNS. Durch die zusätzliche Bestimmung der Anti-Nukleosomen-Antikörper kann daher die serologische Trefferquote in der SLE-Diagnostik deutlich gesteigert werden.

Antikörper gegen Nukleosomen weisen außerdem auf einen schweren SLE-Verlauf mit Lupusnephritis (LN) hin: Prävalenz bei Patienten mit transplantationspflichtiger LN: 79 %, ohne Transplantation: 18 %, SLE ohne Nephritis: 9 %.

Literatur

1. Suer W, Dähnrich C, Schlumberger W, Stöcker W (2004) Autoantibodies in SLE but not in scleroderma react with protein-stripped nucleosomes. J Autoimmun 22:325-334
2. Stinton LM, Barr SG, Tibbles LA, Yilmaz S, Sar A, Benediktson H, Fritzler MJ (2007) Autoantibodies in lupus nephritis patients requiring renal transplantation. Lupus16(6):394-400

Autoantikörper gegen NuMA

Synonym(e)

Antikörper gegen das „Nukleäre Mitoseapparat-(NuMA-)Protein“

Englischer Begriff

Anti-NuMA (nuclear mitotic apparatus) antibodies

Definition

NuMA ist ein Phosphoprotein des Zellkerns. In der Interphase verteilt es sich, meist unter Aussparung der Nukleoli, im Zellkern, in der Mitose findet man es an den Spindelpolen, in der Nähe der Zentriolen.

Molmasse

NuMA-Protein: 238 kDa

Funktion und Pathophysiologie

In der Interphase ist NuMA Bestandteil der Kernmatrix, während der Mitose wirkt es mit bei der Formation der Spindeln.

Untersuchungsmaterial

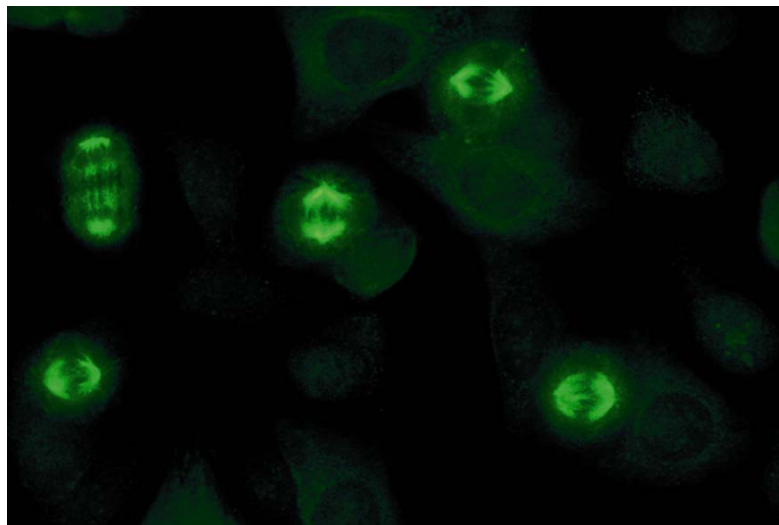
Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest (Ausgangsverdünnung 1:100, FITC-Antihuman-IgG) zeigen HEp-2-Zellen mit Antikörpern gegen NuMA in der Interphase eine feingranuläre bis retikuläre Fluoreszenz der Kernmatrix, unter Auslassung der Nukleoli, bei den mitotischen Zellen stellen sich in der Metaphase die Spindelfasern als zwei sich gegenüberliegende Fächer dar, mit dem Schwerpunkt der Anfärbung in Richtung der Zentriolen. Im Vergleich dazu sind bei Antikörpern gegen HsEg5 („NuMA-2“, 116 kDa) allein die Spindelfasern, aber nicht die Zellkerne der Interphasezellen angefärbt.



**Abb. 59 Autoantikörper gegen NuMA.
Substrat HEp-2-Zellen.**

Es kann alternativ zur Immunfluoreszenz auch ein speziell für große Moleküle ausgelegter ANA-Westernblot eingesetzt werden, der bei Vorliegen der Anti-NuMA eine Bande bei 238 kDa zeigt.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Die Untersuchung wird normalerweise nicht gezielt angefordert, die Antikörper werden oft durch Zufall entdeckt.

Diagnostische Wertigkeit

Antikörper gegen NuMA sind mit dem Sjögren-Syndrom assoziiert. Sie werden aber auch bei verschiedenen anderen Erkrankungen gesehen (Antikörper gegen NuMA-2 sollen eher bei systemischem Lupus erythematoses vorkommen).

Literatur

1. Andrade LE, Chan EK, Peebles CL, Tan EM (1996) Two major autoantigen-antibody systems of the mitotic spindle apparatus. *Arthritis Rheum* 39(10):1643-1653
2. Whitehead CM, Winkfein RJ, Fritzler MJ, Rattner JB (1996) The spindle kinesin-like protein HsEg5 is an autoantigen in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39:1635-1642
3. Grypiotis P, Ruffatti A, Tonello M, Winzler C, Radu C, Zampieri S, Favaro M, Calligaro A, Todesco S (2002) Clinical significance of fluoroscopic patterns specific for the mitotic spindle in patients with rheumatic diseases. *Reumatismo* 54:232-7

Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene

Synonym(e)

Anti-neuronale Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against onco-neuronal antigens

Definition

Onkoneuronale Antigene sind sowohl in verschiedenen Tumoren, als auch in normalen Zellen des Zentralen Nervensystems zu finden. Die entsprechenden Autoantikörper stehen in Zusammenhang mit paraneoplastischen neurologischen Syndromen – denjenigen Komplikationen von Tumorerkrankungen, die nicht durch den Tumor oder durch vaskuläre, infektiöse, metabolische bzw. therapiebedingte Ursachen ausgelöst werden.

Siehe auch: ANNA-3, Autoantikörper gegen Amphiphysin, Gliazell-Nuklei (AGNA), Glutamat-Rezeptoren (Typ AMPA), Glutamat-Rezeptoren (Typ NMDA), Hu, Ma, PCA-2, Ri, Tr, Yo, Kaliumkanäle, Glycin-Rezeptoren und GABA_B-Rezeptoren. Siehe weiter: Autoantikörper gegen Aquaporin – hier handelt es sich allerdings nicht um ein neuronales Antigen im engen Sinne, sondern genauer um ein neurales Antigen, da es vorwiegend von den Gliazellen (Astrocyten) exprimiert wird.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Goldstandard für die Untersuchung der Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene und Abgrenzung zu nicht neuronenspezifischen Autoantikörpern ist der indirekte Immunfluoreszenztest mit Gefrierschnitten folgender Primatengewebe: Hippocampus, Großhirn, Kleinhirn, peripherer Nerv, fetaler Darm, Pankreas, Leber. Zum monospezifischen Nachweis dieser Autoantikörper werden zusätzlich transfizierte HEK-Zellen (Human Embryonic Kidney Cells) eingesetzt, die die unterschiedlichen onkoneuronalen Antigene exprimieren. Es werden zwei Ausgangsverdünnungen parallel inkubiert, 1:10 und 1:100, untersucht werden die Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM, am sichersten in separaten Ansätzen.

Positive Ergebnisse können mit Hilfe von Immunblots bestätigt werden: Dazu verwendet man Westernblots auf der Basis von Kleinhirn- und Hippocampus-Extrakten oder Linienblots mit rekombinanten Antigenen. Westernblots bieten das komplette Antigenspektrum, Linienblots nur eine Auswahl rekombinanter Antigene. Linienblots sind jedoch leichter abzulesen.

Es empfiehlt sich, zusätzlich zur angeforderten Analyse die wichtigsten anderen Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene parallel zu untersuchen, wofür man in vielen Fällen durch eine schnelle und unvermutete lebenswichtige Diagnose entschädigt wird (bei jeder dritten positiven Reaktion). Zur Erfassung des gesamten Spektrums anti-onkoneuronaler Antikörper durch Immunfluoreszenz eignen sich Biochip-Mosaiken: 20 oder mehr Substrate aus Gewebeschnitten und unterschiedlichen rekombinanten Zellen werden auf einem Reaktionsfeld nebeneinander angeordnet und mit der Probe inkubiert.

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

Zwei Drittel der Patienten mit paraneoplastischen neurologischen Syndromen weisen Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene im Serum oder im Liquor auf. Die Autoantikörper sind oft das erste Zeichen des zugrundeliegenden Tumors. Sie beweisen nicht nur die paraneoplastische Ätiologie, sondern erleichtern auch aufgrund der Assoziation mit bestimmten Tumortypen die Tumorsuche.

Anti-	Alternative Bezeichnung (Anti-)	Antigen	Funktion	Neurologisches Syndrom	Häufigste Tumoren
Gut charakterisierte paraneoplastische Antikörper gegen intrazelluläre Antigene (Tumorassoziation >95 %)					
Hu	ANNA-1	Hu-Proteine	RNS-Bindung	Enzephalomyelitis, Neuropathie	SCLC, Neuroblastom
Ri	ANNA-2	NOVA	RNS-Bindung	Opsoklonus-Myoklonus-Ataxie	Mamma-Ca, SCLC
Yo	PCA-1	cdr2, cdr62	DNS-Bindung	PKD	Ovarial-, Mamma-, Uterus-Ca
Amphiphysin		Amphiphysin	Vesikel-Endocytose	Stiff-Person-Syndrom	Mamma-Ca, SCLC
CV-2	CRMP5	CRMP5	Neuronale Entwicklung	Enzephalitis	SCLC, Thymom
Ma1	PNMA1	Ma-Protein (37 kDa)	Unbekannt	Rhombenzephalitis, PLE	Mamma-Ca, weitere
Ta/Ma2	PNMA2	Ma-Protein (40 kDa)	Unbekannt	Rhombenzephalitis, PLE	Hoden-Ca
Recoverin		Recoverin	Photorezeptor-Protein	Retinopathie	Lungen-Ca
Teilcharakterisierte paraneoplastische Antikörper (prädiktiver Wert bezüglich Paraneoplasie unklar)					
PP	ANNA-3	170 kDa	Unbekannt	Neuropathie, PKD, PLE	SCLC
PCA-2		280 kDa	Unbekannt	Cerebellitis, Enzephalitis, LEMS, Neuropathie	SCLC
Tr	PCA-Tr	Unbekannt	Unbekannt	PKD	M. Hodgkin
Zic-4		Zic-Proteine	DNS-Bindung	PKD	SCLC
Titin		Titin	Muskelfilament	Myasthenia gravis	Thymom
Gliazell-Nuclei	AGNA	SOX-1	Transkriptionsfaktor	LEMS, PKD, Neuropathie	SCLC, Bronchialkarzinoid
Ganglionäre AChR		Ganglionäre (α3) AChR	Neurotransmitter-Rezeptoren	Autonome Neuropathie	SCLC, Lymphom, Blasen-, Mamma-, Prostata-, Rektum-Ca, weitere
GAD		GAD65	Neurotransmitter-Synthese	Stiff-Person-Syndrom, limbische Enzephalitis, Kleinhirndegeneration	SCLC, Thymom, Nierenzell-, Pankreas-Ca, weitere
Fakultativ paraneoplastische Antikörper gegen neuronale Oberflächenantigene (mit oder ohne Tumor auftretende Antikörper)					
Glutamat-Rezeptoren, Typ AMPA	AMPA-Rezeptoren	GluR1-/GluR2-Untereinheit des Rezeptors	Neurotransmitter-Rezeptoren	Limbische Enzephalitis, atypische Psychose	SCLC, non-SCLC, Mamma-Ca, Thymom

Glutamat-Rezeptoren, Typ NMDA	NMDA-Rezeptoren	Extrazelluläre Domäne der NR1-Untereinheit des Rezeptors	Neurotransmitter-Rezeptoren	Anti-Glutamat-Rezeptor-(Typ NMDA)-Enzephalitis, IgA, IgM: Periphere Neuropathie, Demenz, Psychose	Teratome (Ovarien, Testes), weitere
Metabotrope Glutamat-Rezeptoren 1	mGluR1	Extrazelluläre Domäne von mGluR1	Neurotransmitter-Rezeptoren	Kleinhirndegeneration	M. Hodgkin
Metabotrope Glutamat-Rezeptoren 5	mGluR5	Extrazelluläre Domäne von mGluR5	Neurotransmitter-Rezeptoren	Ophelia-Syndrom (Psychose)	M. Hodgkin
GABA _B -Rezeptoren	Gamma-Aminobuttersäure-B-Rezeptoren	Extrazelluläre Domäne der GABA _{B1} -Untereinheit des Rezeptors	Neurotransmitter-Rezeptoren	Limbische Enzephalitis, Psychose	SCLC, Thymuskarzinoid
LGI1		VGKC-assoziiertes Protein (leucinerich glioma-inactivated 1 protein)	Bestandteil transsynaptischer Komplexe	Limbische Enzephalitis, Demenz	Schilddrüsen-Ca, Thymom, SCLC, Nierenzell-Ca, Ovarialteratom
CASPR2		VGKC-assoziiertes Protein (contactin-associated protein-2)	Bestandteil von Adhäsionskomplexen	Neuromyotonie, Morvan-Syndrom, limbische Enzephalitis	Thymom
Glycin-Rezeptoren	GlyR	α1-Untereinheit des Rezeptors	Neurotransmitter-Rezeptoren	Progressive Enzephalomyelitis mit Rigidität und Myoklonus	Thymom (selten)
VGCC			Spannungsabhängige Calciumkanäle	LEMS	SCLC
AChR		Nicotinerge AChR	Neurotransmitter-Rezeptoren	Myasthenia gravis	Thymom
Antikörper gegen antigliale Antigene (sehr selten mit Tumoren auftretend)					
AQP-4	NMO-IgG	Aquaporin-4-Protein	ZNS-Wasserkanäle	Neuromyelitis optica, longitudinale extensive transverse Myelitis, rezidivierende Optikusneuritis	Mamma-, Lungen-Ca, Thymom, weitere

Tabelle: Klinisch relevante Antikörper als Marker einer paraneoplastischen Ätiologie (zum Teil nach Blaes et al. 2012).

Abkürzungen

AChR Acetylcholinrezeptor, *CRMP* collapsin response mediator protein, *PP* Purkinjezell- und Podocytenkerne, *LEMS* Lambert-Eaton-Myasthenie-Syndrom, *PKD* paraneoplastische Kleinhirndegeneration, *PLE* paraneoplastische limbische Enzephalitis, *SCLC* kleinzelliges Bronchialkarzinom, *VGCC* spannungsabhängige Calciumkanäle, *VGKC* spannungsabhängige Kaliumkanäle.

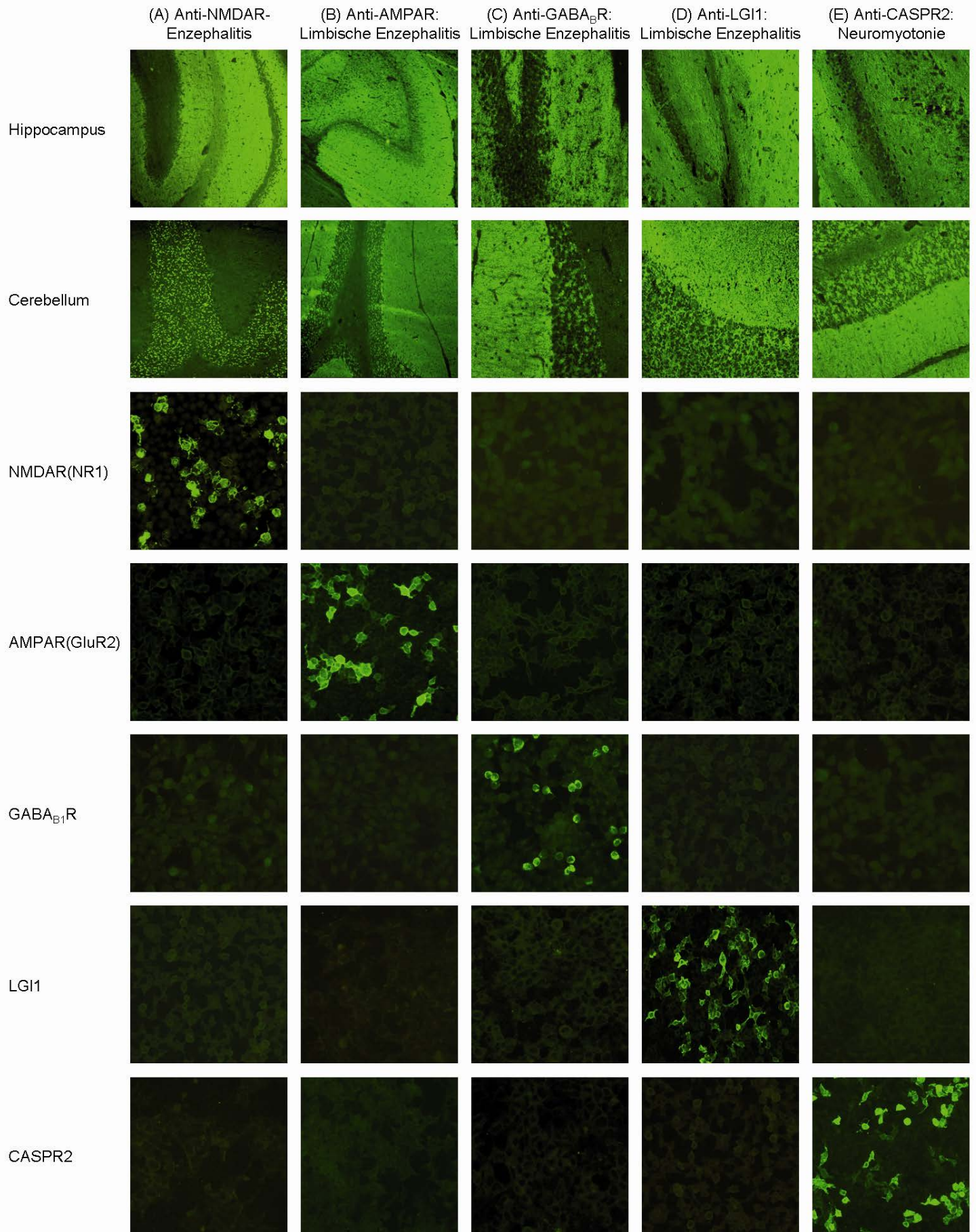


Abb. 60 Autoantikörper gegen neuronale Oberflächenantigene. Substrate Hippocampus und Cerebellum (Ratte), unterschiedlich transfizierte HEK-293-Zellen (siehe auch Autoantikörper gegen Glutamat-Rezeptoren (Typen AMPA und NMDA), Kaliumkanäle).

Literatur

1. Wandinger KP, Klingbeil C, Gneiss C, Waters P, Dalmau J, Saschenbrecker S, Borowski K, Deisenhammer F, Vincent A, Probst C, Stöcker W (2011) Neue serologische Marker zur Differentialdiagnose der Autoimmun-Enzephalitis. *J Lab Med* 35(6):329-342
2. Blaes F, Grisold W, Grabbe S, Hübner J, Kleeberg U, Krege S, Leyboldt F, Rauer S, Roelcke U, Schreckenberger M, Singer S, Stummer W, Voltz R, Wandinger KP, Weller M, Wörmann B (2012) Paraneoplastische Syndrome. Leitlinien für Diagnostik und Therapie der Deutschen Gesellschaft für Neurologie. 5., überarbeitete Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, im Druck

Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln

Synonym(e)

ICA (islet cell antibodies), Pankreas-Inselzell-Antikörper, Antikörper gegen endokrines Pankreasgewebe

Englischer Begriff

Islet cell antibodies (ICA)

Definition

Autoantikörper gegen Antigene der Pankreas-Inseln. Drei relevante Zielantigene wurden bisher identifiziert: die Enzyme Glutamat-Decarboxylase (GAD), Tyrosin-Phosphatase (Insulinom-assoziiertes Antigen 2, IA2) und der Zinktransporter ZnT8.

Funktion und Pathophysiologie

Durch den serologischen Nachweis der Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln kann die Diagnose eines Typ-I-Diabetes mellitus abgesichert werden. Darüber hinaus kann man präklinische Autoimmunreaktionen bei Risikopersonen aufdecken.

Folgende Beobachtungen lassen vermuten, dass Inselzell-Antikörper keine Rolle bei der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ I spielen:

- (1) Die Erkrankung wird nicht von der Mutter auf den Fetus übertragen.
- (2) Eine Plasmapherese führt nicht zur Besserung der Krankheit.
- (3) Im Tierexperiment lässt sich die Erkrankung nicht mittels ICA-haltiger Seren übertragen.

Untersuchungsmaterial

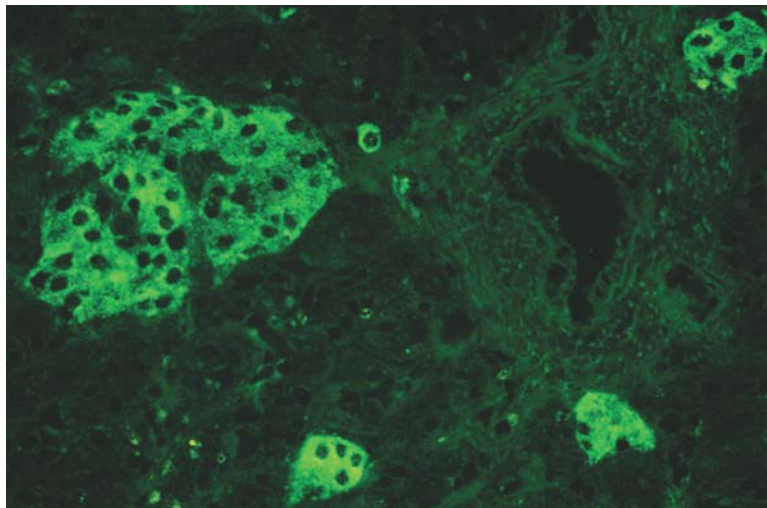
Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Primatenpankreas (Ausgangsverdünnung parallel 1:10 und 1:100, Dauer erster Inkubationsschritt 18 h) beobachtet man eine glatte bis körnige cytoplasmatische Fluoreszenz aller Inselzellen.



**Abb. 61 Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln.
Substrat Primatenpankreas.**

Als monospezifische Testsysteme sind ELISA und Radioimmuntests zum Nachweis der Antikörper gegen die wichtigsten Antigene GAD (Glutamat-Decarboxylase) und IA2 (Tyrosin-Phosphatase) verfügbar. Für Antikörper gegen den Zinktransporter ZnT8 existiert gegenwärtig kein kommerzielles Testsysteme.

Internationale Einheit

Für den Immunfluoreszenztest stellt die Juvenile Diabetes Foundation (JDF) ein Referenzserum zur Verfügung. Dementsprechend sollten die Ergebnisse in JDF-Einheiten (JDFU) angegeben werden. Dabei ermittelt man durch indirekte Immunfluoreszenz parallel die Titer der positiven Patientenproben und des Referenzserums und errechnet in Kenntnis der JDF-Einheiten des Referenzserums im Dreisatz die JDF-Einheiten für die Patienten.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen Antigene der Pankreas-Inseln dient einerseits dazu, die Diagnose Typ-1-Diabetes mellitus abzusichern und andererseits präklinische Autoimmunreaktionen bei Risikopersonen aufzudecken: In 90 % der Fälle lassen sich bereits vor dem Zeitpunkt der klinischen Manifestation ein oder mehrere Diabetes-mellitus-assoziierte Autoantikörper im Serum feststellen. Ihr Nachweis ermöglicht dann eine frühzeitige Identifizierung der Personen mit erhöhtem Erkrankungsrisiko. Durch geeignete Interventionen, z. B. die Regulierung des Glucosespiegels auf einem niedrigen Niveau oder immunsuppressive Maßnahmen, lässt sich unter Umständen ein Ausbruch der Erkrankung verhindern.

In Deutschland gibt es vier Millionen Altersdiabetiker – als Typ-2-Diabetiker klassifizierte Personen. Von ihnen gehören aber 10 % dem Typ 1 an („Latent Autoimmune Diabetes of Adults, LADA“). Die Fehldiagnose hat fatale Auswirkungen: Man dürfte diesen Patienten primär keine oralen Antidiabetika verabreichen, sondern sie ausschließlich mit Insulin versorgen, um die Pankreas-Inseln nicht unnötig zu stimulieren und sie dadurch der weiteren Autoaggression auszusetzen. Nach Abklingen der Insulitis bliebe in vielen Fällen eine Restfunktion des endokrinen Pankreas erhalten. Bei allen neu diagnostizierten Diabetikern sollten daher im Serum die Diabetes-mellitus-assoziierten Autoantikörper untersucht werden, um die Fälle mit Typ 1 zu identifizieren.

Diagnostische Wertigkeit

Der Antikörpertiter nimmt mit dem Fortschreiten der Erkrankung ab.

Literatur

Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D (1974) Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 2(7892):1279-1283

Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret

Synonym(e)

Autoantikörper gegen die Azinuszellen des Pankreas, Pankreas-Azinuszell-Antikörper, PAK

Englischer Begriff

Autoantibodies against pancreatic acini, aab to exocrine pancreas, aab to pancreatic juice

Definition

Autoantikörper bei Morbus Crohn, die sich gegen die Azinuszellen und das Sekret des Pankreas richten.

Funktion und Pathophysiologie

Autoantikörper gegen Azinuszellen des Pankreas sind ein sicheres Erkennungsmerkmal des M. Crohn, sie stellen das serologische Pendant zu den Autoantikörpern gegen intestinale Becherzellen (Becherzell-Antikörper) bei Colitis ulcerosa dar. Beide Antikörper besitzen hinsichtlich ihrer Organspezifität und Krankheitsassoziation sowie ihrer oft hohen Serumkonzentrationen eine ähnlich große Signifikanz wie andere Autoantikörper für Erkrankungen, deren Autoimmunpathogenese bereits allgemein akzeptiert wird, beispielsweise Antikörper gegen Stachelzell-Desmosomen für den Pemphigus vulgaris oder Autoantikörper gegen glomeruläre Basalmembran für das Goodpasture-Syndrom. Dass nur ein Teil der Patienten Autoantikörper aufweist, ist kein Gegenargument, sondern entspricht ebenfalls den Verhältnissen bei Erkrankungen mit gesicherter Autoimmunpathogenese. Bei Patienten mit akuter oder chronischer Pankreatitis sind nur in Ausnahmefällen Pankreas-Antikörper feststellbar, die Titer sind immer sehr niedrig, IgG kommt im Gegensatz zu M. Crohn praktisch nicht vor.

Pankreas-Azinuszell-Antikörper ließen sich durch Pankreassekret neutralisieren. Sie sind möglicherweise Ausdruck einer pathogenetisch bedeutsamen Autoimmunität: Es liegt nahe, dass die Entzündung der Darmwand bei M. Crohn durch das im Pankreassekret enthaltene Autoantigen hervorgerufen wird. Betroffen sind nur Darmabschnitte vom Ileum abwärts, wo die Antigen-Konzentration ausreicht, das sensibilisierte Immunsystem zu stimulieren. Die physiologisch vorgesehene lange Verweildauer des Darminhalts im Ileum erhebt diesen Darmabschnitt zur Prädilektionsstelle; an diesem Ort der häufigsten Manifestation des M. Crohn („Ileitis terminalis“) kann sich das Autoimmunpotential ausgiebig mit dem Autoantigen auseinandersetzen. Der für M. Crohn typische diskontinuierliche Übergang von Colonbereichen mit schwerer Entzündung zu völlig normaler Schleimhaut könnte dadurch erklärt werden, dass eine zusammenhängende Stuhlsäule sich eine Zeit lang nicht verschiebt und das enthaltene Autoantigen währenddessen die Mechanismen der Autoaggression in Bewegung setzt, die zu einer lokal scharf begrenzten Entzündung führen.

Die bei M. Crohn mit noch höherer Prävalenz parallel auftretenden Antikörper gegen Bierhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) und gegen verschiedene Infektionserreger rühren vermutlich von einer sekundären Immunisierung her, bedingt durch die Adjuvans-Wirkung der spezifischen Auseinandersetzung des Immunsystems mit Pankreassekret.

Die Entdeckung der Antikörper gegen das exokrine Pankreas war ein reines Zufallsergebnis und der unmittelbare Ertrag des Einsatzes von BIOCHIP-Mosaiken. Vorher wurden allenfalls Antikörper gegen Bestandteile der Darmmucosa untersucht. Ein gegen Pankreasantigen gerichteter Autoimmunmechanismus wurde niemals in Betracht gezogen, da dieses Organ in der Regel am Krankheitsgeschehen nicht beteiligt ist.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

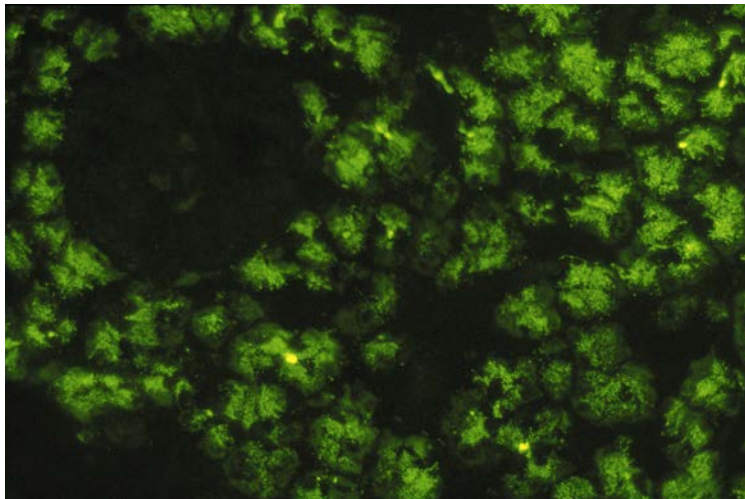
Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret werden durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt, als Substrat werden Gefrierschnitte eines Primatenpankreas eingesetzt. Die Ausgangsverdünnung beträgt 1:10. Sowohl IgA als auch IgG werden untersucht, IgM spielt keine Rolle.

Mit positiven Seren kann man zwei relevante Muster differenzieren: Eine netzig-granuläre und eine tropfige Fluoreszenz im Bereich der Azinuszellen, die Inseln werden nicht mit angefärbt. Nur genau diese beiden Muster dürfen als positiv bewertet werden, die Vielzahl der übrigen Fluoreszenzbilder, die sich auf exokrinem Pankreas darstellen können, haben nichts mit M. Crohn zu tun. Die netzig-granuläre Fluoreszenz beruht auf einer Reaktion mit dem inzwischen identifizierten Autoantigen CUZD1; das Zielantigen, das der tropfigen Fluoreszenz entspricht, ist das Glycoprotein GP-2. Anstelle der Gewebeschnitte des Pankreas kann man heute mit diesen beiden Autoantigenen transfizierte HEK-293-Zellen als Substrate einsetzen, wodurch die Nachweis-Empfindlichkeit um 25 % gesteigert wird.



**Abb. 62 Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret.
Substrat Primatenpankreas.**

Autoantikörper gegen Pankreas-Sekret bestehen in 9 % der positiven Fälle nur aus IgA, in 36 % nur aus IgG, in 55 % liegen beide Immunglobulinklassen vor. Titer ab 1:32 beweisen einen M. Crohn.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Differentialdiagnostik der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (M. Crohn, Colitis ulcerosa)

Interpretation

Autoantikörper gegen exokrines Pankreas (Azinuszellen) sind pathognomonisch für M. Crohn. Die Prävalenz beträgt im Durchschnitt 39 %, bei Bestehen der Krankheit seit mehr als 2 Jahren 50 %.

Bei Colitis ulcerosa kommen Pankreas-Antikörper nur in Ausnahmefällen und bei gesunden Blutspendern praktisch niemals vor.

Diagnostische Wertigkeit

Zusätzlich zu Pankreas-Azinuszell-Autoantikörpern findet man bei M. Crohn Anti-*Saccharomyces-cerevisiae*-Antikörper (ASCA), und zwar bei 67 % der Seren. Nur selten werden diese beiden Antikörper bei Colitis ulcerosa beobachtet. Zusammen mit den Antikörpern gegen exokrines Pankreas ergibt sich damit eine serologische Trefferquote für M. Crohn von 80 %. Unter Einbeziehung der Autoantikörper gegen intestinale Becherzellen (Becherzell-Antikörper (BAk) 28 % bei Colitis ulcerosa) und gegen neutrophile Granulozyten (pANCA; 67 % bei Colitis ulcerosa, 7 % bei M. Crohn), lässt sich ohne Kenntnis der Klinik, allein durch eine serologische Diagnostik bei vier von fünf Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen zwischen Colitis ulcerosa und M. Crohn unterscheiden (da alle Antikörper unabhängig voneinander vorkommen und völlig unterschiedliche Zielantigene erkennen). Allerdings sind Autoantikörper gegen Granulozyten nicht ausreichend spezifisch.

Literatur

1. Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Stöcker K, Jantschek G (1984) Autoantikörper gegen exokrines Pankreas und gegen intestinale Becherzellen in der Diagnostik des Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa. Dtsch Med Wochenschr 109(51-52):1963-1969
2. Stöcker W, Otte M, Ulrich S, Normann D, Finkbeiner H, Stöcker K, Jantschek G, Scriba PC (1987) Autoimmunity to pancreatic juice in Crohn's disease. Results of an autoantibody screening in patients with chronic inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol Suppl 139:41-52
3. Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Reinhold D, Büttner T, Büning C, Feist E, Conrad K (2009) The zymogen granule membrane glycoprotein GP2 is a major autoantigen of pancreatic antibodies –relevance in diagnostics and pathogenesis of Crohn's disease. In: Conrad K et al. (Hrsg.) From pathogenesis to therapy of autoimmune diseases. Pabst Science Publishers:449-462
4. Roggenbuck D, Hausdorf G, Martinez-Gamboa L, Feist E, Büttner T, Reinhold D, Jungblut PR, Porstmann T, Laass MW, Büning C, Henker J, Conrad K (2009) Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease. Gut, E-Publishing ahead of print

5. Stöcker W, Teegen B, Probst C, Aulinger-Stöcker K, Ludwig D, Glocker MO, and Komorowski L (2009) CUZD1 and GP2 are the exocrine pancreas autoantigens in Crohn's disease. In: Conrad K et al. (Hrsg.) From pathogenesis to therapy of autoimmune diseases. Pabst Science Publishers:463-473

Autoantikörper gegen Parietalzellen

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Belegzellen des Magens, Antikörper gegen Parietalzellen, Parietalzell-Antikörper, PCA, Antikörper gegen H^+K^+ -ATPase

Englischer Begriff

Antibodies against parietal cells

Definition

Autoantikörper gegen die Parietalzellen (Belegzellen) des Magens. Diese Zellen produzieren Salzsäure und Intrinsic-Faktor, der zur Resorption von Vitamin B12 benötigt wird. Als ein Zielantigen der Autoantikörper gegen Parietalzellen ist das Enzym H^+/K^+ -ATPase identifiziert worden, das an der Salzsäure-Produktion maßgeblich beteiligt ist. Darüber hinaus können Parietalzell-Antikörper möglicherweise auch gegen Gastrinrezeptoren gerichtet sein. Beide Antigene befinden sich auf der Oberfläche der Parietalzellen.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Primatenmagen (Ausgangsverdünnung 1:10) fluoresziert bei einer positiven Reaktion das Cytoplasma der Parietalzellen in der Magenschleimhaut, die Fluoreszenz ist fein- bis grobschollig. Alle anderen Strukturen sind dunkler. Bei einer negativen Reaktion zeigen die Parietalzellen des Magens eine gleich dunkle Fluoreszenz wie die Umgebung.

Parietalzell-Antikörper werden beim Mikroskopieren oft verwechselt mit Antikörpern gegen Mitochondrien (AMA). Diese ergeben eine gleichmäßige feinkörnige Fluoreszenz des Cytoplasma der Belegzellen, wobei deren Umgebung (schwächer) mitreagiert. Durch eine Harnstoff-Vorbehandlung der Gefrierschnitte des Magens wird das typische Muster der Mitochondrien-Antikörper nahezu vollständig unterdrückt. Somit können Parietalzell-Antikörper neben gleichzeitig vorliegenden AMA zuverlässig bestimmt werden, die Auswertung der Immunfluoreszenz wird erleichtert, Sensitivität und Spezifität werden erhöht.

Mittels eines monospezifischen ELISA können Antikörper gegen H^+/K^+ -ATPase nachgewiesen werden, das maßgebliche Zielantigen der PCA.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Parietalzellen können bei Patienten mit chronisch-atrophischer Gastritis, Perniziöser Anämie und Funikulärer Myelose, aber auch bei Patienten mit Autoimmun-Endokrinopathien nachgewiesen werden. Sie gehören vornehmlich den Immunglobulinklassen IgA und IgG an.

Bei allen Patienten mit Belegzell-Antikörpern konnte endoskopisch eine chronisch-atrophische Gastritis aufgedeckt werden, die Prävalenz beträgt nahezu 100 %, solange die Magenschleimhaut noch nicht vollständig atrophisch ist. Während die diagnostische Sensitivität für die Perniziöse Anämie mit 80-90 % sehr hoch ist, ist die Spezifität für chronisch-atrophische Gastritis, Perniziöse Anämie und Funikuläre Myelose durch die Vielzahl der weiteren mit Belegzell-Antikörpern assoziierten Krankheitsbilder (z. B. Hashimoto-Thyreoiditis, Morbus Basedow, Diabetes mellitus Typ I, Autoimmunadrenalitis, idiopathischer primärer Hypoparathyreoidismus) und die hohe Prävalenz bei gesunden Blutspendern (5-10 %, zunehmend mit dem Alter) eingeschränkt. Die Prävalenz der Parietalzell-Antikörper nimmt im Verlauf der chronisch-atrophischen Gastritis ab.

Literatur

Taylor KB, Roitt IM, Doniach D, Couchman KG, Shapland C (1962) Autoimmune phenomena in pernicious anaemia: Gastric antibodies. Br Med J 2(5316):1347-1352

Autoantikörper gegen PCA-2

Synonym(e)

Purkinje-Zellen-Autoantikörper 2, Autoantikörper gegen Purkinje-Zellen 2

Englischer Begriff

Purkinje cell cytoplasmic autoantibodies 2

Definition

Autoantikörper gegen ein 280-kDa-Protein der Purkinje-Zellen des Kleinhirns. Siehe auch Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene.

Funktion und Pathophysiologie

PCA-2-Proteine werden sowohl in peripheren und zentralen Neuronen exprimiert, als auch, bei Antikörperpositiven Patienten, in Tumorgewebe.

Analytik

Zum Nachweis von Autoantikörpern gegen PCA-2 eignet sich der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gfrierschnitten von Primatenkleinhirn. Autoantikörper gegen PCA-2 zeigen eine Fluoreszenz des Purkinje-Zell-Cytoplasmas, die sich bis in die Dendriten erstreckt.

Im Westernblot mit aufgetrenntem Kleinhirnextrakt kommt es zu einer Reaktion bei 280 kDa.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

PCA-2-Antikörper können den ersten Hinweis auf einen zugrundeliegenden Tumor geben.

Antikörper gegen PCA-2 sind mit der Limbus-/Hirnstamm-Enzephalitis, der cerebellären Ataxie, dem Lambert-Eaton-myasthenischen Syndrom (LEMS), der autonomen und motorischen Neuropathie nachweisbar und häufig mit gynäkologischen Tumoren und dem kleinzelligen Bronchialkarzinom assoziiert.

Literatur

1. Vernino S, Lennon V (2000) New Purkinje cell antibody (PCA-2): marker of lung cancer-related neurological autoimmunity. *Ann Neurol* 47(3):297-305
2. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, Honnorat J, Smitt PS, Vedeler CH, Verschuuren JJ, Vincent A, Voltz R (2004) Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(8):1135-1140

Autoantikörper gegen PCNA

Synonym(e)

PCNA-Antikörper, Anti-PCNA, Anti-Cyclin I

Englischer Begriff

Anti-PCNA (proliferating cells' nuclear antigen) autoantibodies

Definition

Die Autoantikörper richten sich gegen Epitope des PCNA (proliferating cell's nuclear antigen). Es handelt sich um ein Hilfsprotein der DNS-Polymerase delta und hat ein Molekulargewicht von 36 kDa. PCNA nimmt aufgrund seiner Funktion eine Schlüsselstellung bei der Steuerung des Zellzyklus ein: Mit seinem Erscheinen beginnt die S-Phase. Das Protein wird bis zur Mitte der G2-Phase wieder abgebaut.

Untersuchungsmaterial

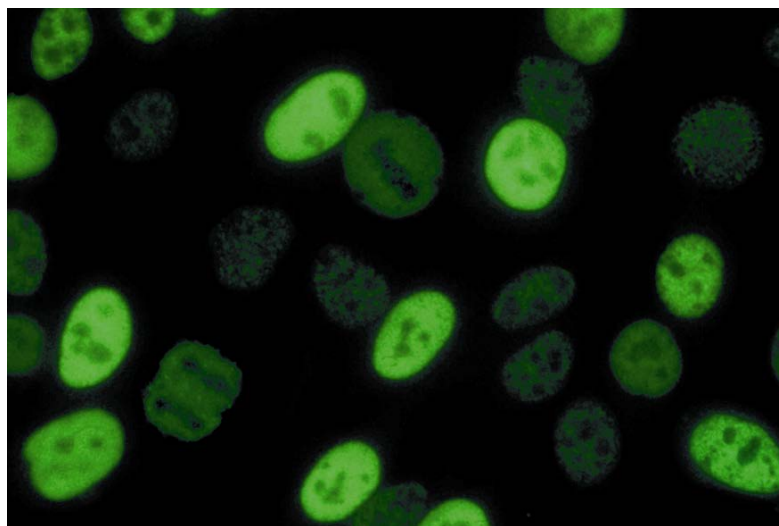
Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen PCNA zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) ein Zellzyklus-abhängiges Fluoreszenzmuster. Die Hälfte der Zellkerne aller Interphase-Zellen weist eine helle, feingranuläre Grundfluoreszenz auf, unter Aussparung der Nukleoli. Bei der anderen Hälfte findet man das gleiche Fluoreszenzmuster, die Intensität ist aber um den Faktor 10 geringer. In der Mitose ist der Bereich der kondensierten Chromosomen nicht mit angefärbt, die Umgebung der Chromosomen zeigt eine nur schwache feingranuläre Fluoreszenz, in Muster und Intensität den dunkleren Kernen der Interphase-Zellen entsprechend.



**Abb. 63 Autoantikörper gegen PCNA.
Substrat HEp-2-Zellen.**

Autoantikörper gegen PCNA werden oft mit Autoantikörpern gegen Mitosin (Cyclin II) verwechselt, die mit CENP-F assoziiert oder identisch sind. Autoantikörper sowohl gegen PCNA als auch gegen Mitosin weisen die gleiche Besonderheit auf, dass nur etwa die Hälfte der Zellkerne eine starke Reaktion zeigt, die übrigen Zellkerne reagieren um ein Vielfaches schwächer. Bei Antikörpern gegen PCNA zeigen die mitotischen Zellen außerhalb der Chromosomenregion aber eine nur schwache Fluoreszenz, während sie sich bei Antikörpern gegen Mitosin perichromosomal besonders stark bis feingranulär darstellen.

Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur genauen Identifizierung des Zielantigens ein monospezifischer Test (ELISA, Linienblot) mit aufgereinigtem, gegebenenfalls rekombinantem PCNA eingesetzt werden.

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

PCNA-Autoantikörper sind spezifisch für den systemischen Lupus erythematodes (SLE). Die Prävalenz beträgt aber nur 3 %.

Literatur

1. Miyachi K, Fritzler MJ, Tan CK (1978) Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. J Immunol 121(6):2228-2234

2. Kawamura K, Kobayashi Y, Tanaka T, Ikeda R, Fujikawa-Yamamoto K, Suzuki K (2000) Intranuclear localization of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle in renal cell carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 22(2):107-113

Autoantikörper gegen Phospholipase-A₂-Rezeptoren

Synonym(e)

Autoantikörper gegen PLA₂R, Anti-PLA₂R-Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies against phospholipase A2 receptors (PLA2R), anti-PLA2R autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen Phospholipase-A₂-Rezeptoren vom M-Typ sind spezifische Marker für die primäre membranöse Glomerulonephritis (MGN, Synonym: idiopathische membranöse Nephropathie, IMN).

Funktion und Pathophysiologie

Die MGN ist eine Folge von Immunreaktionen gegen Phospholipase-A₂-Rezeptoren (transmembrane Glykoproteine, die in den Nierenglomeruli auf der Oberfläche der Podocyten exprimiert werden). Im Bereich der glomerulären Basalmembran lagern sich Immunkomplexe ab und aktivieren das Komplementsystem, es kommt zu Überproduktion von Kollagen IV und Laminin, Zerstörung des Cytoskeletts der Podocyten, Verbreiterung der Basalmembran und Proteinurie.

MGN ist die häufigste Nierenerkrankung mit nephrotischem Syndrom. Je stärker die Proteinurie ist, desto höher ist das langfristige Risiko für ein Nierenversagen. Hohe Mortalität in Zusammenhang mit thromboembolischen und kardiovaskulären Komplikationen.

Analytik

Indirekte Immunfluoreszenz unter Verwendung PLA₂R-transfizierter HEK293-Zellen als Substrat. Einstiegsverdünnung ist 1:10.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Diagnostische Wertigkeit

Die Diagnose der MGN erfolgte bisher durch histologische sowie elektronenmikroskopische Untersuchung von Nierenbiopsien. Kennzeichnend ist hierbei die Ablagerung von Immunkomplexen auf der Außenseite der glomerulären Basalmembran. Seit kurzem lässt sich die Erkrankung durch den serologischen Nachweis zirkulierender Autoantikörper gegen Phospholipase-A₂-Rezeptoren erkennen. Sie gehören vorwiegend der Immunglobulinklasse IgG an, sind hochspezifisch und können im Serum von über 70 % der Patienten mit MGN nachgewiesen werden. Bei Gesunden und Patienten mit Lupus oder IgA-Nephritis finden sich diese Autoantikörper hingegen nicht.

Literatur

1. Beck LH, Bonegio RGB, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, Klein JB, Salant DJ (2009) M-Type Phospholipase A₂ receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 361(1):11-21
2. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, Helmchen U, Stahl RA (2011) An immunofluorescence test for phospholipase-A₂-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 26(8):2526-2532
3. Gunnarsson I, Schlumberger W, Rönnelid J (2011) PLA₂ receptor antibodies as serological markers of idiopathic membranous nephritis are absent in active membranous lupus nephritis. In: Conrad K et al. (Hrsg.). *From prediction to prevention of autoimmune diseases: Autoantigens, Autoantibodies, Autoimmunity*. Pabst Science Publishers 232-233

Autoantikörper gegen Phospholipide

Synonym(e)

Phospholipid-Antikörper, aPL-Antikörper

Englischer Begriff

Phospholipid autoantibodies

Definition

Autantikörper gegen Phospholipide richten sich gegen Komplexe aus Phospholipiden und Plasmaproteinen.

Struktur

Grundbaustein der Phospholipide ist die Phosphatidsäure, bestehend aus einer Phosphorsäure verestert mit Glycerin und 2 Fettsäuren, die wiederum verestert ist mit einer polaren Gruppe (z. B. Serin, Glycerin). Handelt es sich bei der polaren Gruppe z. B. um Serin, so ist die Bezeichnung des Phospholipids Phosphatidylserin. Beim Cardiolipin sind 2 Phosphatidsäuren mit einem weiteren Glycerin verknüpft.

Pathophysiologie

Hintergrund: Phospholipid-Antikörper wurden zunächst als Störfaktoren bei infektionsserologischen Untersuchungen entdeckt (Wassermann-Test, VRDL-Test). Erst in den 80er Jahren wurde erkannt, dass Patienten mit Antikörpern gegen Phospholipide häufig an SLE und anderen Autoimmunerkrankungen litten.

Pathogenese: Entsprechend den verschiedenen Angriffspunkten der Phospholipid-Antikörper ist die Pathogenese vielgestaltig. Neben der Aktivierung von Endothel, möglicherweise einhergehend mit direkter Schädigung, kann es zu einer direkten Aktivierung von Thrombocyten und zu Störungen der humoralen Gerinnungsfaktoren kommen. Gemeinsame Folge all dieser Veränderungen ist eine gesteigerte Gerinnung mit pathologischer Thrombenbildung.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Analytik

Antikörper gegen Phospholipide lassen sich zuverlässig nur mit ELISA nachweisen, bei denen neben dem jeweiligen Phospholipid auch das Plasmaprotein β 2-Glykoprotein I als Antigen eingesetzt wird.

Klinisch relevante Autoantikörper wurden sowohl gegen anionische Phospholipide (Cardiolipin, Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol) als auch gegen neutrale Phospholipide (Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin) beschrieben.

Das Vorliegen der Autoantikörper gegen Cardiolipin (ACA) gehört zu den Diagnosekriterien des Anti-Phospholipid-Syndroms (Sapporo Consensus Workshop 1999). Aufgrund ausgeprägter Strukturhomologien zeigen Antikörper gegen Cardiolipin eine Kreuzreaktivität mit anderen anionischen Phospholipiden. Die Bestimmung der entsprechenden Antikörper (gegen Phosphatidylserin, Phosphatidylglycerol, Phosphatidylinositol, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylcholin) ist nur in seltenen Fällen von zusätzlichem diagnostischen Nutzen.

Zur serologischen Diagnostik des Anti-Phospholipid-Syndroms (APS) empfiehlt sich zunächst der Nachweis der Antikörper gegen Cardiolipin (IgG und IgM; IgA ist weniger aussagekräftig) sowie des Lupus Antikoagulans (LA). Die Bestimmung dieser Antikörper muss nach 3-6 Wochen wiederholt werden, da erst ein zweimaliger positiver Befund die serologischen APS-Kriterien erfüllt. Bei negativem ACA-Befund sollten Antikörper der Klassen IgA, IgG und IgM gegen β 2-Glykoprotein (β 2GP1; ein Plasmaprotein-Cofaktor) untersucht werden. Diese treten bei APS mit hoher Prävalenz (60-90 %) sowie unabhängig von ACA und LA auf. Durch die parallele Untersuchung von ACA und Anti- β 2GP1-Antikörpern lässt sich die serologische Trefferquote auf nahezu 100 % steigern.

Die klinisch relevanten Antikörper gegen Cardiolipin sind auf das Plasmaprotein β 2-Glykoprotein I (β 2GPI) als Kofaktor der Antigenerkennung angewiesen. Durch die Bindung von β 2GPI an Cardiolipin kommt es wahrscheinlich zu Konformationsänderungen innerhalb der Gesamtstruktur und somit zu neuen antigenen Epitopen. Mit einem Anti-Cardiolipin-ELISA scheint man also 3 verschiedene Antikörpertypen zu erfassen:

- gegen Cardiolipin (häufig bei Infektionserkrankungen)
- gegen den Komplex aus Cardiolipin und β 2GPI
- gegen β 2GPI (wahrscheinlich strukturell modifiziert)

Anti-Cardiolipin-ELISA eignen sich nicht als Screening-Methode für den parallelen Nachweis der Antikörper gegen Cardiolipin und gegen β 2GPI, obwohl β 2GPI als Antigen enthalten ist. Wahrscheinlich führt die strukturelle Modifizierung des β 2GPI durch die Bindung an Cardiolipin zum Verlust von Epitopen, die von einer Subpopulation der Antikörper gegen β 2GPI erkannt werden. Die zuverlässige und sensitive Bestimmung der Antikörper gegen β 2GPI gelingt nur mit einem ELISA, der ausschließlich dieses Protein als Antigen enthält.

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Die klinischen Komplikationen, die mit dem Vorkommen von Antikörpern gegen Phospholipide assoziiert sind, hat man unter dem Begriff Anti-Phospholipid-Syndrom (APS) zusammengefasst.

ACA-Prävalenz bei 1.000 APS-Patienten [nach Cervera et al.]:

Ig-Klasse	Prävalenz bei APS in %
nur IgG	44
nur IgM	12
IgG/IgM	88

Das Anti-Phospholipid-Syndrom wird in drei verschiedene Subtypen unterteilt:

- Primäres APS: Isoliertes Auftreten, keine weitere erkennbare Autoimmunerkrankung.
- Sekundäres APS: Kombination mit weiteren Autoimmunerkrankungen, meist bei SLE-Patienten, seltener bei Patienten mit Sklerodermie oder Sjögren-Syndrom.
- Katastrophales APS: Sehr seltene Komplikation, die zu gleichen Anteilen bei primärem und sekundärem APS vorkommt. Diese Manifestation ist mit einer hohen Mortalitätsrate von über 50 % assoziiert und sollte bei allen Patienten mit multiplem Organversagen unbekanntem Ursprungs berücksichtigt werden.

Antikörper gegen Cardiolipin treten mit hoher Prävalenz (60-90 %) bei Patienten auf, die an Symptomen des Anti-Phospholipid-Syndroms leiden. Ihr Nachweis (persistierend über 3-6 Wochen) ist ein serologisches Kriterium zur APS-Diagnose gemäß den Kriterien des Sapporro Consensus Workshops 1999 (Wilson et al. (1999) Arthritis Rheum 42:1309). Danach gilt ein APS als erwiesen, wenn eines von zwei klinischen Kriterien und eines von zwei serologischen Kriterien erfüllt sind:

Klinische Kriterien	serologische Kriterien
Vaskuläre Thrombose	Antikörper gegen Cardiolipin (IgG/IgM)
Schwangerschaftskomplikationen (z. B. Früh- oder Totgeburten)	Anwesenheit von Lupus-Antikoagulans

20-40 % der Patienten mit SLE weisen Antikörper gegen Cardiolipin auf, insbesondere wenn bereits typische APS-Symptome vorliegen. Es gibt Hinweise darauf, dass bei Patienten mit SLE IgG-Antikörper gegen Cardiolipin mit Thrombocytopenie korrelieren und IgM-Antikörper mit hämolytischer Anämie.

Auch bei 5-15 % der Patienten mit anderen systemischen Autoimmunerkrankungen (Rheumatoide Arthritis, Sklerodermie, Sjögren-Syndrom, Sharp-Syndrom und andere) sind ACA im Serum nachzuweisen. Sie kommen allerdings auch bei Infektionen vor, wie beispielsweise Lues oder Virushepatitis, sowie bei 1-5 % gesunder erscheinender Personen. Bei Personen mit einer Thrombose in der Anamnese beträgt die Prävalenz 20-30 %. Wie häufig ACA bei Infektionskrankheiten und Blutspendern gemessen werden, ist sehr stark vom eingesetzten Testsystem abhängig.

Persistierende hohe Titer von Anti-Cardiolipin-Antikörpern werden als Risikofaktor für Thrombosen und vaskuläre Komplikationen bei Herz- oder Hirninfarkten angesehen. Bei hohen Antikörpertitern gegen Cardiolipin treten diese Komplikationen in ca. 80 % der Fälle auf. Eine ähnliche Situation findet man in der Gynäkologie: Bei 64 % der Frauen mit Antikörpern gegen Phospholipide sind habituelle Aborte, Tot- oder Frühgeburten, unabhängig davon, ob Symptome einer Autoimmunerkrankung vorliegen, zu erwarten. Dabei sind Patientinnen mit systemischem Lupus erythematodes besonders von den genannten Schwangerschaftskomplikationen betroffen (bis zu 77 % der Fälle). Als Ursache werden durch Venenthrombosen in der Plazenta ausgelöste Infarkte diskutiert. Man sollte ACA-Spiegel bei Personen mit erhöhtem Thromboserisiko, bei Frauen mit einer Fehlgeburt in der Anamnese und bei Infarktpatienten überprüfen

Literatur

1. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA (1999) International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum 42(7):1309-1311
2. Cervera R, Piette JC, Font J et al. (2002) Antiphospholipid syndrome: Clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. Arthritis Rheum 46(4):1019-1027

3. Alarcon-Segovia D, Cabral AR (2000) The anti-phospholipid antibody syndrome: clinical and serological aspects. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol* 14(1):139-150
4. Levine JS, Branch DW, Rauch J (2002) The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med* 346(10):752-763

Autoantikörper gegen PML

Synonym(e)

Anti-PML-Antikörper, Autoantikörper gegen promyelocytisch leukämische Proteine

Englischer Begriff

Autoantibodies to PML (promyelocytic leukemia antigen)

Definition

Das PML-Antigen ist Bestandteil der „Promyelocytic leukemia nuclear bodies“ (PML-NB, Kerngranula).

Funktion und Pathophysiologie

Bei circa einem Drittel der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) können mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) nachgewiesen werden. Während der vergangenen zehn Jahre konnten eine Anzahl von Kernstrukturen als spezifische ANA-Zielantigene bei PBC ermittelt werden. Diese umfassen promyelocytisch leukämische Proteine (PML-Proteine) und Sp100 sowie zwei Komponenten des Kernporenkomplexes (GP210 und p62). Siehe auch PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper.

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen PML können mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) nachgewiesen werden und ergeben ein Nuclear-Dot-Muster. Eine exakte Bestimmung ist auch mit Linienblots oder ELISA unter Verwendung von rekombinantem PML möglich.

Referenzbereich

Negativ

Indikation

Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) und kombinierte Lebererkrankung (Overlap-Syndrom).

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen PML werden bei etwa 13 % der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) gefunden, treten aber auch bei 4 % der Patienten mit Autoimmunhepatitis (AIH) auf. Diese Antikörper werden zusätzlich vereinzelt in Seren von Patienten mit Virus-induzierter Hepatitis B und C beobachtet.

Die gemeinsame Bestimmung der Autoantikörper gegen PML, SP100, AMA-M2 und M2-3E erhöht die diagnostische Sensitivität für PBC auf 94 % bei einer Spezifität von 99 % und dient der Abgrenzung gegenüber anderen autoimmunen Lebererkrankungen.

Literatur

1. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostecki C, Grotzinger T, Will H (1995) Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand.J Immunol* 42(2):257-268
2. Szostecki C, Guldner HH, Will H (1997) Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 17(1):71-78
3. Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wiesierska-Gadek J (2005) Antinuclear antibodies in primary biliary liver cirrhosis. *Semin Liver Dis* 25:298-310

Autoantikörper gegen PM-Scl

Synonym(e)

Anti-PM-Scl, PM-Scl-Antikörper, Anti-PM-1, Antikörper gegen PM-1

Englischer Begriff

Anti PM-Scl, antibodies against PM-Scl, anti PM-1, antibodies against PM-1

Definition

Autoantikörper gegen PM-Scl binden sich an einen Proteinkomplex aus 16 Polypeptiden mit Molekularmassen zwischen 20 und 110 kDa, der vorwiegend in den Nukleoli lokalisiert und an der Bildung der ribosomalen RNS beteiligt ist. Die Hauptantigene des Komplexes haben Molekularmassen von 75 kDa (PM-Scl-75) und 100 kDa (PM-Scl-100). Siehe auch Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) und Myositis-spezifische Autoantikörper.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen PM-Scl zeigen in der Immunfluoreszenz bei HEp-2-Zellen eine homogene Fluoreszenz der Nukleoli mit gleichzeitig schwächerer, feingranulärer Reaktion des Nukleoplasma. Die kondensierten Chromosomen der mitotischen Zellen sind ausgespart, außerhalb der Chromosomen zeigt sich eine feine, granuläre Fluoreszenz. Auch bei Gefrierschnitten der Primatenleber ergibt sich eine homogene Fluoreszenz der Nukleoli, sowie eine sehr schwache, feingranuläre bis retikuläre Anfärbung des Zellkerns. Die Ausgangsverdünnung ist 1:100.

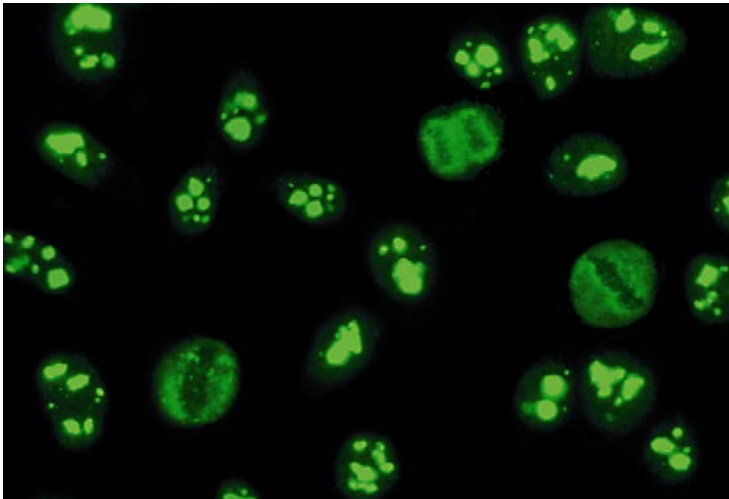


Abb. 64 Autoantikörper gegen PM-Scl.
Substrat HEp-2-Zellen.

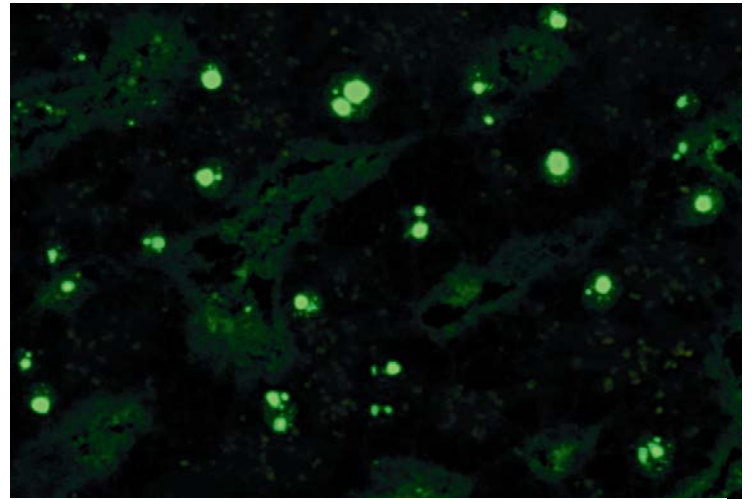


Abb. 65 Autoantikörper gegen PM-Scl.
Substrat Primatenleber.

Positive Ergebnisse der indirekten Immunfluoreszenz sollten mit monospezifischen Testsystemen wie ELISA oder Immunblot bestätigt werden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

PM-Scl-Antikörper werden bei 18 % der Patienten mit Polymyositis/Systemsklerose-Überlappungs-Syndrom nachgewiesen. Hier sind die Autoantikörper in der Regel gegen beide Hauptantigene gerichtet: PM-Scl-75 und PM-Scl-100. Liegt ausschließlich eine Progressive Systemsklerose vor, zeigen Antikörper gegen PM-Scl-75 eine Prävalenz von 10 % und gegen PM-Scl-100 eine Prävalenz von 7 %. Bei Testsystemen, die ausschließlich Anti-PM-Scl-100 nachweisen, bleibt ein Anteil an Patienten mit Progressiver Systemsklerose unentdeckt.

Literatur

1. Reichlin M, Maddison PJ, Targoff I, Bunch T, Arnett F, Sharp G, Treadwell E, Tan EM (1984) Antibodies to a nuclear/nucleolar antigen in patients with polymyositis overlap syndromes. J Clin Immunol 4(1):40-44

2. Meyer W, Scheper T, Janssen A, Torkler S, Schlumberger W, Stöcker W (2007) EUROLINE Myositis Profile: A newly developed line immunoassay for the detection of myositis specific antibodies. In: Conrad K et al. (Hrsg.). From Etiopathogenesis to the Prediction of Autoimmune Diseases: Relevance of Autoantibodies. Pabst Science Publishers 5:612-613
3. Hanke K, Brückner C, Dährich C, Huscher D, Becker M, Komorowski L, Meyer W, Jansen A, Backhaus M, Becker M, Kill A, Egerer K, Burmester G, Hiepe F, Schlumberger W, Riemekasten G (2009) Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther* 11(1):R22

Autoantikörper gegen Proteinase 3

Synonym(e)

Anti-PR3-Antikörper

Englischer Begriff

Autoantibodies to Proteinase 3

Definition

Autoantikörper gegen Proteinase 3, eine kationische Serin-Proteinase mit einem Molekulargewicht von 27 kDa. Sie ist in den Granula neutrophiler Granulocyten und in den Lysosomen der Monocyten lokalisiert. Siehe auch: Autoantikörper gegen Granulocyten-Cytoplasma (ANCA, cANCA, pANCA) (c-ANCA; Antineutrophilen-Cytoplasma-Antikörper, cytoplasmatischer Typ)

Funktion und Pathophysiologie

Einige klinische Beobachtungen und Tiermodelle sprechen für eine direkte pathogenetische Rolle der Antikörper für den vaskulitischen Entzündungsprozess.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Die internationale gemeinsame Erklärung (International Consensus Statement) empfiehlt die Verwendung der Indirekten Immunfluoreszenz (IIF) für ANCA-Suchtests und die Durchführung von sowohl Anti-PR3- als auch Anti-MPO-ELISA zur Bestätigung positiver IIF-Ergebnisse. Bei dieser Vorgehensweise lag die Sensitivität für neu diagnostizierte Fälle der Wegener'schen Granulomatose bei 73 % und der Mikroskopischen Polyangiitis bei 67 %. Die ausschließliche Verwendung von IIF oder ELISA ergab eine unzureichende diagnostische Spezifität. Die Kombination von IIF mit dem Anti-PR3- und Anti-MPO-ELISA ergab eine Spezifität von 99 % für den Nachweis einer Vaskulitis der kleinen Gefäße.

Die Diagnostik der Proteinase-3-Antikörper stützt sich zum einen auf die IIF, mit der man Autoantikörper gegen neutrophile Granulocyten (ANCA) global erfasst, zum anderen auf monospezifische ELISA und Immunblots sowie auf Antigendots für die IIF. Standardsubstrate für die Immunfluoreszenz sind Ethanol- und Formaldehyd-fixierte humane Granulocyten. Auf Ethanol-fixierten Granulocyten stellen sich Proteinase-3-Antikörper als cANCA dar: Ein körniges Fluoreszenzmuster, die Granula verteilen sich gleichmäßig über das gesamte Cytoplasma der Granulocyten und lassen die Zellkerne frei. Das durch cANCA bedingte granuläre Muster entspricht der Verteilung der Proteinase 3 (PR3). Eine cANCA-Fluoreszenz kann aber auch durch Antikörper gegen das Bactericidal Permeability Increasing Protein (BPI) hervorgerufen werden, auf Formalin-fixierten Granulocyten ebenso durch Antikörper gegen Myeloperoxidase, die auf Ethanol-fixierten Granulocyten als pANCA in Erscheinung treten.

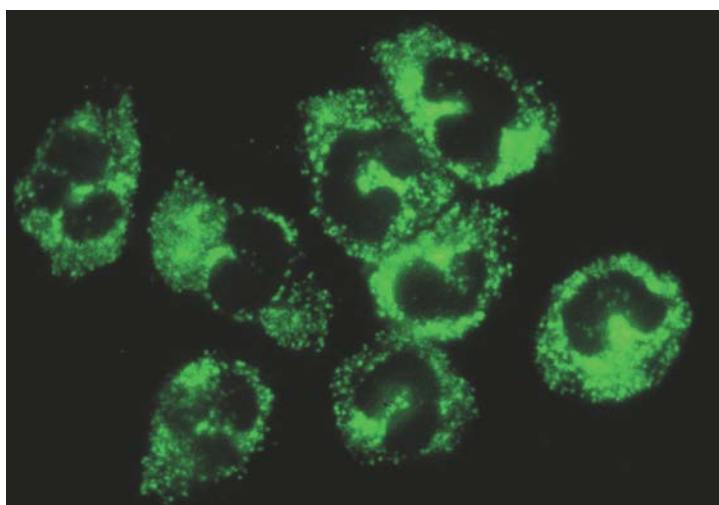


Abb. 66 Autoantikörper gegen Proteinase 3. Substrat humane Granulocyten (Ethanol-fixiert).

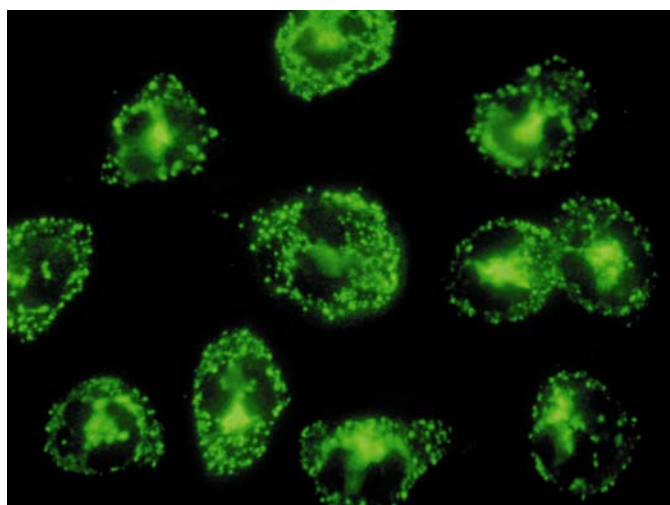


Abb. 67 Autoantikörper gegen Proteinase 3. Substrat humane Granulocyten (Formaldehyd-fixiert).

Proteinase 3 ist das Hauptzielantigen der cANCA, doch stellen sich nicht alle cANCA positiv im Anti-PR3-ELISA dar. Durch die parallele Untersuchung der cANCA und der Antikörper gegen PR3 gegenüber dem Einsatz jeweils nur einer der beiden Methoden allein lässt sich die diagnostische Trefferquote bei Patienten mit Wegener'scher Granulomatose deutlich erhöhen.

Enzymimmuntests basieren meist auf nativer Proteinase 3, die aus humanen Granulocyten isoliert wird. PR3-Antigen wird entweder direkt an Mikrotiterplatten gebunden (klassischer Anti-PR3-ELISA), oder es wird mittels eines „Capture-Antikörpers“ an Mikrotiterplatten fixiert (Anti-PR3-Capture-ELISA), wodurch die Autoantigen-Epitope der PR3 für den entsprechenden Antikörper besonders gut zugänglich werden. Der Anti-PR3-Capture-ELISA zeichnet sich daher im Vergleich zum klassischen ELISA durch eine höhere Sensitivität für die Wegener'sche Granulomatose aus, allerdings bei leicht verminderter Spezifität.

Durch den Einsatz rekombinanter PR3 (basierend auf humaner cDNS, exprimiert in humanen Zellen) stehen moderne ELISA zur Verfügung, die sich durch herausragende Sensitivität und Spezifität auszeichnen. Bei der rekombinant hergestellten PR3 kann das proteolytisch aktive Zentrum des Enzyms im aktiven Zentrum ausgeschaltet werden, zum Beispiel durch den Austausch des Serins an Position 176 durch Alanin, sodass die Proteinase-Aktivität den Stoffwechsel der Zelle nicht mehr stört und die Kulturzellen PR3 in hoher Konzentration akkumulieren können - ohne diesen Kunstgriff sterben sie frühzeitig ab. Die synthetisierte PR3 verdaut sich bei den verschiedenen Schritten der Präparation nicht in unübersehbarer Weise selbst und lässt sich in größeren Mengen herstellen. Dadurch erreicht man im Vergleich zur indirekten Immunfluoreszenz eine bisher unübertroffene Sensitivität von über 95 %.

Referenzbereich

Negativ

Indikation

ANCA-assoziierte Vaskulitis, Wegener'sche Granulomatose

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen PR3 weisen eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Wegener'sche Granulomatose auf (Prävalenz bis 93 %). Die Abwesenheit der Antikörper schließt aber das Vorliegen der Krankheit nicht aus. Eine Korrelation der Titerhöhe mit der Krankheitsaktivität ist beschrieben worden, wird allerdings kontrovers diskutiert. Deutlich ansteigende Antikörpertiter gehen häufig einem Rezidiv voraus, die positiven prädiktiven Werte sind aber zu niedrig, um eine medikamentöse Behandlung allein auf Basis der ANCA-Titer zu rechtfertigen. Signifikante Titeranstiege sollten den Kliniker aber veranlassen, den Patienten engmaschiger zu überwachen.

Anti-PR3 können auch bei Churg-Strauss-Syndrom (10 %) und in seltenen Fällen bei Mikroskopischer Polyangiitis und Polyarteriitis nodosa nachgewiesen werden.

Ein ANCA-Nachweis erleichtert sowohl die Diagnose als auch die Kontrolle von WG und MPA. Zu Beginn der Erkrankung ist der ANCA-Spiegel in der Regel hoch, fällt dann während der Behandlung ab und steigt kurz vor einem klinischen Rezidiv wieder an. Viele Wissenschaftler haben eine recht gute Korrelation zwischen Titer und Krankheitsaktivität beschrieben. Steigende ANCA-Titer weisen jedoch nicht immer auf ein Rezidiv hin.

Literatur

1. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, Van Es LA, Van der Giessen M, Van der Hem GK, The TH (1985) Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1(8426):425-429
2. Savage COS, Winearls CG, Jones S, et al. (1987) Prospective study of radioimmunoassay for antibodies against neutrophil cytoplasm in diagnosis of systemic vasculitis. *Lancet* 1(8547):1389-1393
3. Sun J, Fass DN, Viss MA, Hummel AM, Tang H, Homburger HA, Specks U (1998) A proportion of proteinase 3 (PR3)-specific anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) only react with PR3 after cleavage of its N-terminal activation dipeptide. *Clin Exp Immunol* 114(2):320-326
4. Savige J, Gillis D, Benson E, et al. (1999) International consensus statement on testing and reporting of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 111:507-513
5. Damoiseaux J, Buschtez M, Steller U, Zerbe B, Rosemann A, Fechner K, Schlumberger W, Cohen Tervaert JW, Stöcker W (2007) EUROPLUS™ ANCA BIOCHIP Mosaic: MPO and PR3 antigen dots improve the detection of ANCA by indirect immunofluorescence. In: Conrad K et al. (Hrsg.) *From Etiopathogenesis to the Prediction of Autoimmune Diseases: Relevance of Autoantibodies*. Pabst Science Publishers 5:485-486
6. Damoiseaux J, Steller U, Buschtez M, Vaessen M, Rosemann A, van Paassen P, Stöcker W, Fechner K, Cohen Tervaert JW (2009) EUROPLUS ANCA BIOCHIP mosaic: PR3 and MPO antigen microdots improve the laboratory diagnostics of ANCA-associated vasculitis. *J Immunol Methods* 348(1-2):67-73

7. Damoiseaux J, Dährich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Stegeman CA, Egerer K, Hiepe F, Van Paassen P, Stöcker W, Schlumberger W, Cohen Tervaert JW (2009) A novel ELISA using a mixture of human native and recombinant proteinase-3 significantly improves the diagnostic potential for ANCA-associated vasculitis. *Ann Rheum Dis* Feb 68(2):228-233

Autoantikörper gegen quergestreifte Muskeln

Englischer Begriff

Autoantibodies against striated muscle

Definition

Autoantikörper gegen quergestreifte Muskeln reagieren mit verschiedenen Proteinen der Skelett- oder Herzmuskulatur. Eines der Zielantigene ist das Protein Titin, dessen physiologische Funktion darin besteht, eine Überdehnung der Muskelfasern zu verhindern.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit den Substraten Skelett- und/oder Herzmuskulatur (Ausgangsverdünnung 1:100) ergibt sich bei einer positiven Reaktion eine charakteristische Querstreifung des Gewebes.

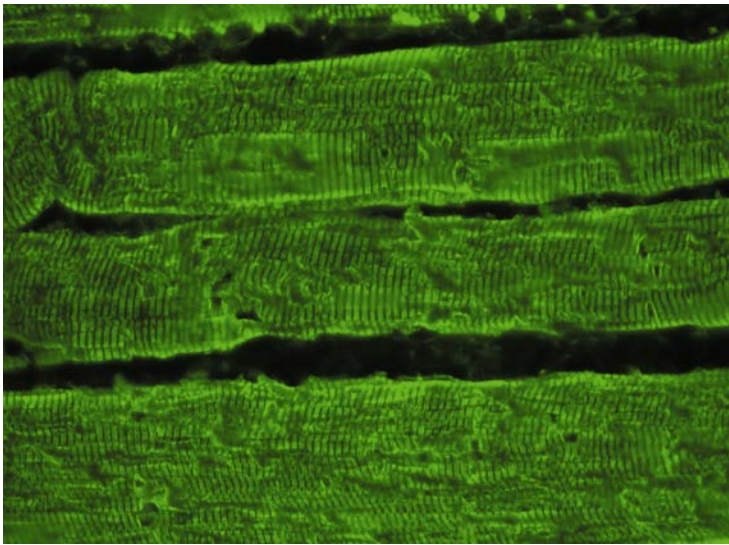


Abb. 68 Autoantikörper gegen quergestreifte Muskulatur.

Substrat Skelettmuskel, Prim.

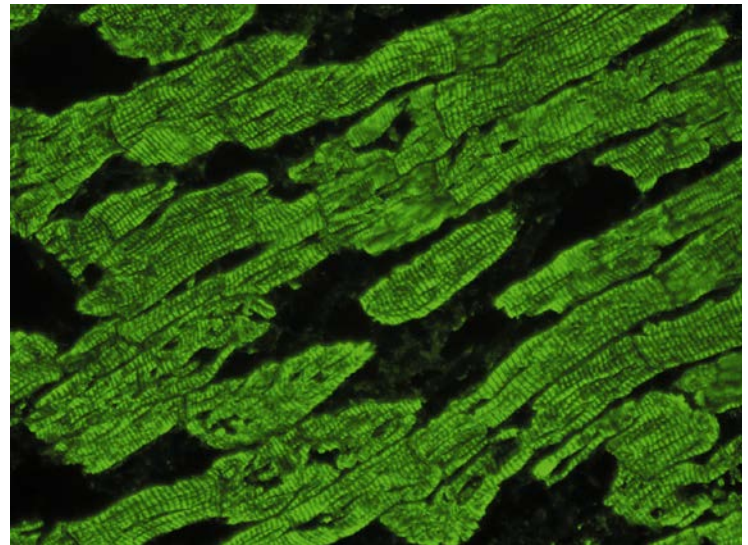


Abb. 69 Autoantikörper gegen quergestreifte Muskulatur.

Substrat Herzmuskel, Prim.

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen Titin bedient man sich monospezifischer ELISA, da sie mittels IIFT nicht eindeutig von anderen Autoantikörpern mit dem gleichen Fluoreszenzbild abgegrenzt werden können.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen quergestreifte Muskeln kommen bei Myasthenia-gravis-Patienten mit einer Prävalenz von 70 % vor und können die Diagnose absichern. Allerdings haben nur hohe Antikörper-Titer ab 1:1.000 diagnostische Relevanz. Darüber hinaus sind diese Antikörper auch bei der serologischen Untersuchung von Patienten mit verschiedenen entzündlichen Myopathien (in niedrigeren Titern) feststellbar (Polymyositis und andere). Ebenso finden sich diese Autoantikörper bei Chagas-Kranken im chronischen Stadium. Sie können asymptomatisch gelegentlich bei Patienten mit M. Basedow oder Autoimmun-Polyendokrinopathie auftreten.

Literatur

Strauss AJ, Seegal BC, Hsu KC, Burkholder PM, Nastuk WL, Ossermann KE (1960) Immunofluorescence demonstration of a muscle binding, complement-fixing serum globulin fraction in myasthenia gravis. Proc Soc Exp Biol Med 105:184-191

Autoantikörper gegen Ri

Synonym(e)

Anti-Ri, ANNA-2, Autoantikörper gegen Zellkerne neuronaler Zellen Typ 2

Englischer Begriff

Anti-Ri autoantibodies, anti-neuronal nuclear antibodies 2 (ANNA 2)

Definition

Onkoneuronale Antikörper, die einerseits gegen verschiedene Tumoren gerichtet sind, andererseits gegen Zellkerne neuronaler Zellen. Die Bezeichnung wurde vom Namen der Indexpatientin abgeleitet (Richards).

Untersuchungsmaterial

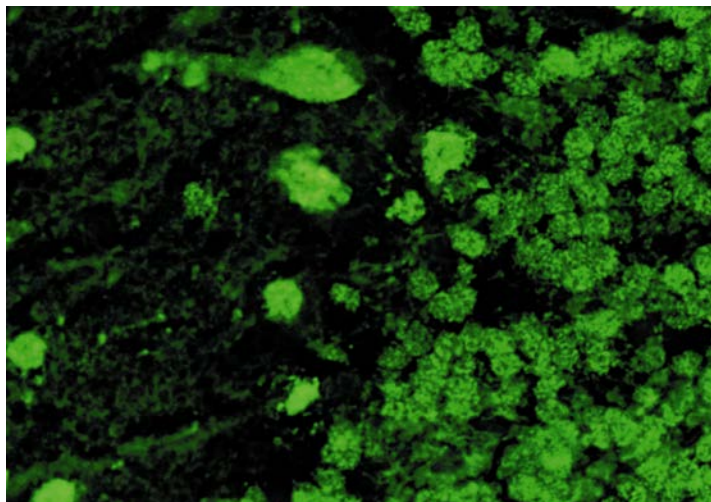
Serum oder Liquor

Probenstabilität

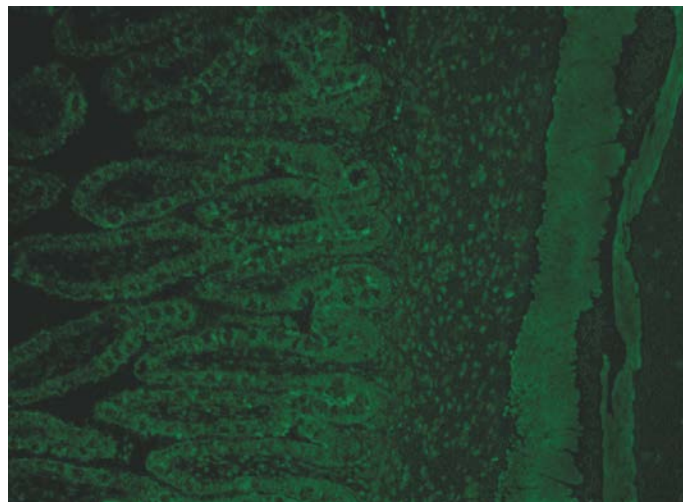
Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Zum Nachweis von Autoantikörpern gegen Neuronenkerne (Ri, Hu) eignet sich der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gefrierschnitten von Primatenkleinhirn. Die Autoantikörper gegen Ri haben oft hohe Titer, zuweilen bis 1:100.000. Zur Abgrenzung der Autoantikörper gegen Ri von Autoantikörpern gegen Hu dient ein zusätzlicher Gefrierschnitt eines Primatendarms: Anti-Hu reagiert mit den Zellkernen des Plexus myentericus, Anti-Ri dagegen nicht. Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur Absicherung des Befundes ein Westernblot mit Kleinhirn-Antigenen oder ein Linienblot mit aufgereinigten definierten, gegebenenfalls rekombinanten Antigenen eingesetzt werden.



**Abb. 70 Autoantikörper gegen Ri.
Substrat Primatenkleinhirn.**



**Abb. 71 Autoantikörper gegen Ri.
Substrat Primatendarm.**

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen die onkoneuronalen Ri-Proteine NOVA-1 und NOVA-2 wurden bei Opsoklonus-Myoklonus-Syndrom in Zusammenhang mit einem gynäkologischen Tumor beschrieben, vorwiegend mit Mamma-Karzinom. Anti-Ri-Antikörper können den ersten Hinweis auf einen zugrundeliegenden Tumor geben (siehe Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene). Häufigste mit Ri-Antikörpern assoziierte Tumoren: Kleinzelliges Lungenkarzinom (SCLC) und Mammakarzinom.

Literatur

Voltz R (2002) Paraneoplastische neurologische Autoimmunerkrankungen. Nervenarzt 73(10):909-929

Autoantikörper gegen Ribosomale Phosphoproteine

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Ribosomale P-Proteine

Englischer Begriff

Ribosomal P-protein antibodies

Definition

Das ribosomale P-Protein-Antigen besteht aus 3 Proteinen der 60S-Untereinheit der Ribosomen. Diese Proteine werden als P0 (Molekulargewicht 38 kDa), P1 (19 kDa) und P2 (17 kDa) bezeichnet. Das immunreaktive Hauptepitop ist am carboxyterminalen Ende lokalisiert, das bei allen 3 Proteinen aus einer identischen Sequenz von 17 Aminosäuren besteht. Einer der Erstbeschreiber der Ribosomalen Phosphoproteine war A. M. Gressner.

Untersuchungsmaterial

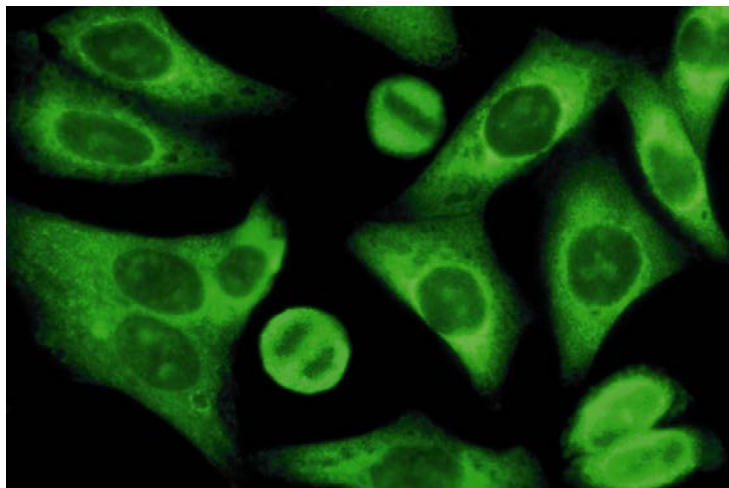
Serum, Plasma

Probenstabilität

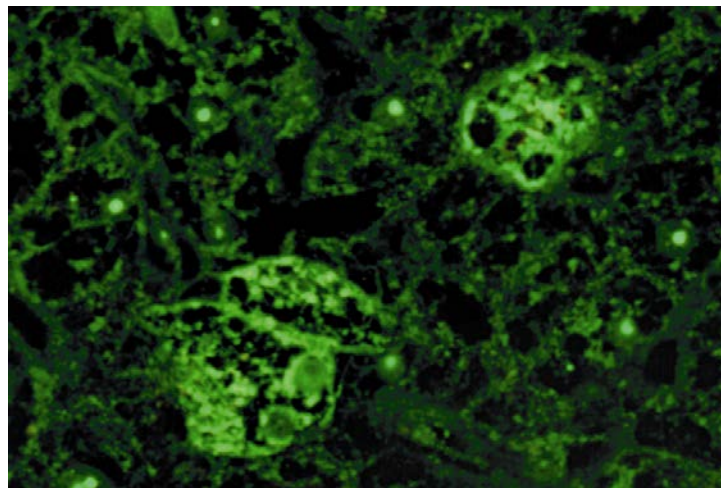
Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen Ribosomale P-Proteine ergeben im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit dem Substrat HEp-2-Zellen eine glatte bis feingranuläre Färbung des Cytoplasma. Hepatocyten der Primatenleber zeigen eine vollflächige cytoplasmatische Fluoreszenz mit fleckförmiger Betonung. Das Cytoplasma von Niere und Magen reagiert ebenfalls positiv. Zur Absicherung des Befundes sollte der Nachweis über monospezifische Testsysteme (ELISA; Immunoblot) erfolgen.



**Abb. 72 Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine.
Substrat HEp-2-Zellen.**



**Abb. 73 Autoantikörper gegen ribosomale P-Proteine.
Substrat Primatenleber.**

Referenzbereich

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Ribosomale P-Proteine sind ein Erkennungsmerkmal des systemischen Lupus erythematoses (SLE). Die Prävalenz beträgt etwa 10 %.

Diagnostische Wertigkeit

Wegen ihrer hohen Krankheitsspezifität lohnt es sich, diese Antikörper neben Autoantikörpern gegen dsDNS, Nukleosomen, Sm, SS-A, Histone und Cardiolipin mit zu untersuchen, da sie unabhängig von den anderen Antikörpern auftreten.

Die Krankheitsaktivität bei SLE korreliert nicht mit der Titerhöhe der ARPA. Ein früher vermuteter Zusammenhang zwischen ZNS-Beteiligung, Nephritis oder Hepatitis mit dem Auftreten der ARPA ist wahrscheinlich auszuschließen.

Literatur

1. Elkon KB, Bonfa E, Weissbach H, Brot N (1994) Antiribosomal antibodies in SLE, infection, and following deliberate immunization. *Adv Exp Med Biol* 347:81-92
2. Caponi L, Giordano A, Bartoloni EB, Gerli R (2003) Detection of anti-ribosome antibodies: a long story of lights and shadows. *Clin Exp Rheumatol* 21(6):771-778

Autoantikörper gegen Ribosomen

Synonym(e)

Antiribosomale Antikörper

Englischer Begriff

Anti-ribosomal antibodies

Definition

Antikörper gegen Ribosomen haben nichts mit Antikörpern gegen ribosomales P-Protein zu tun. Mit der Bezeichnung wurde versucht, ohne Kenntnis der Natur des Antigens ein Fluoreszenzmuster zu interpretieren.

Analytik

Antiribosomale Antikörper werden durch indirekte Immunfluoreszenz untersucht. Ausgangsverdünnung ist 1:100, man kann sich im Allgemeinen auf die Immunglobulinklasse IgG beschränken.

Antikörper gegen Ribosomen zeigen auf HEp-2-Zellen eine glatte bis feingranuläre Fluoreszenz des Cytoplasma, die sich zum Rande hin abschwächt. Bei höher verdünnten Proben erkennt man, dass sich die Zellen unterschiedlich stark anfärben. In den Mitosen ist der perichromosomale Bereich deutlich aufgehellert. Auf der Primatenleber reagiert nur ein Teil der Hepatocyten, mit einer glatten Fluoreszenz des Cytoplasma. Positive Zellen sind einzeln oder gruppenweise über nicht reaktive Bereiche verteilt. Die Rattenleber zeigt eine glatte, über das ganze Organ verteilte Fluoreszenz. Auf dem Magen sind die Haupt- und Belegzellen ebenfalls glatt und gleichmäßig angefärbt. Im Vergleich zu Antikörpern gegen ribosomale P-Proteine ist die Fluoreszenz auf allen Organen feiner und glatter. Zur sicheren Unterscheidung sind moderne monospezifische ELISA-Systeme einzusetzen.

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

Antikörper gegen Ribosomen werden im Mikroskop oft mit Antikörpern gegen ribosomale P-Proteine verwechselt, die eine hohe Spezifität für den systemischen Lupus erythematoses (SLE) aufweisen. Deshalb kann man sich auf Aussagen nicht verlassen, die diesen Antikörpern eine Spezifität sowohl für SLE als auch für die Autoimmunhepatitis zubilligen.

Literatur

Storch W (1997) Immunfluoreszenzfibel. Blackwell Wissenschaftsverlag Berlin Wien 139-141

Autoantikörper gegen Sa

Synonym(e)

Sa-Autoantikörper, Anti-Sa-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies against Sa, anti-Sa antibodies

Definition

Autoantikörper gegen Sa sind gegen ein Protein aus der humanen Plazenta mit einem Molekulargewicht von 50 kDa gerichtet bei dem es sich um die citrullinierte Form des Intermediärfilaments Vimentin handelt. Siehe auch: Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP).

Funktion und Pathophysiologie

Mit Rheumatoider Arthritis (RA) sind Autoantikörper gegen Proteine assoziiert, welche die seltene Aminosäure Citrullin enthalten. Citrullinierte Proteine konnten auch in entzündeter Synovialschleimhaut von RA-Patienten identifiziert werden, nicht jedoch in gesundem Gewebe. Es ist anzunehmen, dass citrullinierte Proteine bei RA Ziele von Autoimmunreaktionen darstellen und an Entzündungsreaktion und Gewebeerstörung beteiligt sind.

Antikörper gegen citrullinierte Peptide haben deshalb vermutlich einen näheren ätiologischen Krankheitsbezug als die viel länger bekannten Rheumafaktoren (Autoantikörper gegen Immunglobuline). Diese zeigen eine sehr geringe Krankheits-Spezifität, und kommen auch bei anderen rheumatischen Erkrankungen, bei Infektionskrankheiten und bei gesunden Personen vor. Dagegen findet man Antikörper gegen Sa wie auch gegen citrullinierte Peptide (CCP, siehe dort) nahezu ausschließlich bei Rheumatoider Arthritis.

Analytik

Antikörper gegen Sa können mittels ELISA oder Immunblot bestimmt werden. Diagnostisch relevant ist die Immunglobulinklasse IgG.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen Sa gehören neben den Antikörpern gegen CCP zu den aktuell bedeutsamsten Markern der Rheumatoiden Arthritis. Sie besitzen eine Spezifität von nahezu 100 %. Zielantigen ist das im Synovialgewebe exprimierte citrullinierte Vimentin. Anti-Sa-Antikörper besitzen zwar eine geringere Sensitivität als Anti-CCP (Anti-Sa-WB 40 %, Anti-Sa-ELISA 55-60 %), dafür ist ihr prognostischer Wert für eine schwere Verlaufsform der RA unübertroffen (massiver Gelenkbefall, extraartikuläre Manifestationen). Der Nachweis von Anti-Sa bei Gesunden ist als RA-Risiko zu werten. Es können durchaus 10-15 Jahre vergehen, bis diese Personen an RA erkranken: Je höher der Anti-Sa-Titer, desto kürzer ist das Intervall.

Die Antikörpertiter variieren mit der Krankheitsaktivität und ihre Normalisierung wird als ein obligatorisches Merkmal einer Remission angesehen. Patienten mit einer aktiven RA weisen signifikant höhere Anti-Sa-Antikörpertiter im Vergleich zu Patienten mit milder RA auf.

Autoantikörper gegen CCP und gegen SA lassen sich bei ca. 75 % bzw. bei ca. 60 % der RA-Patienten schon sehr früh im Verlauf der Erkrankung nachweisen, oft sogar schon viele Jahre vor den ersten Symptomen, und zwar sowohl im Serum, als auch in der Synovialflüssigkeit. Dadurch kann die Diagnose heute früher gestellt werden und auch eine adäquate Therapie kann eher erfolgen. Bezüglich der Krankheitsprognose zeigen radiologische Untersuchungen, dass bei Patienten mit Anti-CCP-Antikörpern bzw. Anti-Sa-Antikörpern signifikant häufiger schwerere Gelenkschädigungen auftreten als bei Anti-CCP-negativen bzw. Anti-Sa-negativen Patienten. Insofern hat der Anti-Sa-Nachweis auch einen prognostischen Wert.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP), Rheumafaktoren

Literatur

1. Després N, Boire G, Lopez-Longo FJ, Ménard HA (1994) The Sa system: a novel antigen-antibody system specific for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 21(6):1027-1033
2. Vossenaar ER, Després N, Lapointe E, van der Heijden A, Lora M, Senu T, van Venrooij WJ, Ménard HA (2004) Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res Ther* 6(2):R142-150
3. Ménard HA (2007) Anti-CCP versus anti-Sa antibodies for the diagnosis of RA. *Nat Clin Pract Rheumatol* 3(2):76-77

Autoantikörper gegen Scl-70

Synonym(e)

Anti-DNS-Topoisomerase-I-Antikörper

Englischer Begriff

Anti-Scl-70 autoantibodies

Definition

Scl-70-Antikörper sind gegen Epitope der DNS-Topoisomerase I gerichtet.

Funktion und Pathophysiologie

Das Molekulargewicht des nativen Enzyms beträgt 100 kDa. Ursprünglich hatte man im Westernblot nur ein Spaltprodukt von 70 kDa gefunden. Die DNS-Topoisomerase I ist im Nukleoplasma und, in besonders hoher Konzentration, im Nukleolus lokalisiert. Das Enzym ist beteiligt an der Replikation und der Transkription der DNS-Doppelhelix: Es schneidet die DNS-Kette auseinander und lagert sich selbst an das entstehende freie Ende an. Sobald ein bestimmter Abschnitt repliziert oder transkribiert ist, werden die Stränge wieder zusammengefügt, und die Topoisomerase wird wieder freigesetzt.

Untersuchungsmaterial

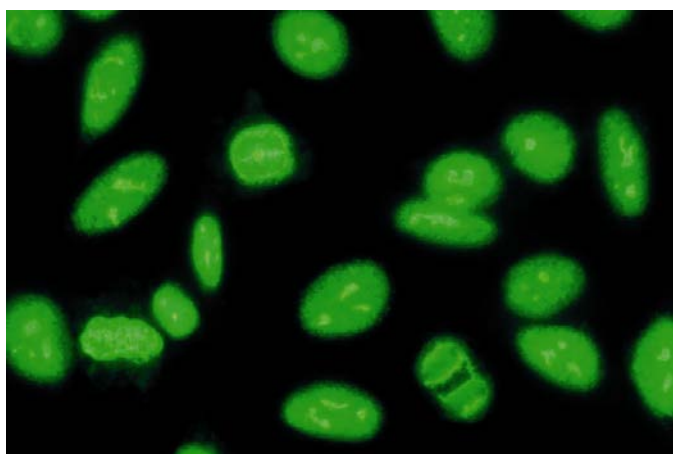
Serum

Probenstabilität

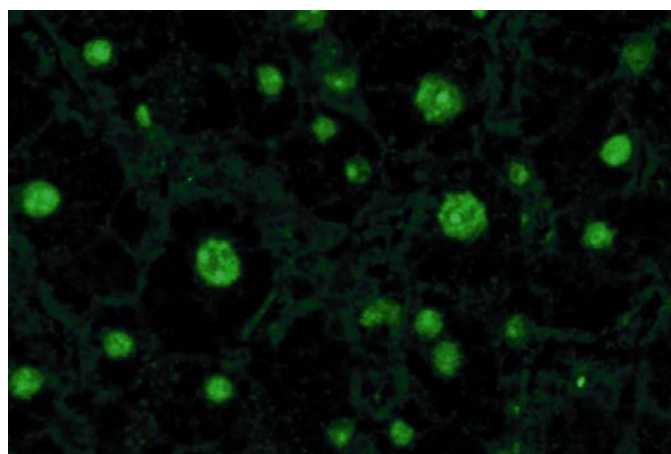
Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Scl-70-Antikörper zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen eine nahezu homogene Kernfluoreszenz der Interphase-Zellen. Die Nukleoli sind betont und fluoreszieren ebenfalls homogen. Das Cytoplasma ist dunkel. Bei mitotischen Zellen fluoresziert nur der Bereich der kondensierten Chromosomen. Die Leber zeigt eine vorwiegend homogene Fluoreszenz der Zellkerne.



**Abb. 74 Autoantikörper gegen Scl-70.
Substrat HEp-2-Zellen.**



**Abb. 75 Autoantikörper gegen Scl-70.
Substrat Primatenleber.**

Ein positives Resultat im IIFT gibt Anlass zur genauen Identifizierung des Zielantigens durch einen monospezifischen Test (ELISA, Linienblot) mit nativ aufgereinigtem Scl-70-Antigen (100-kDa-Protein) oder einen Westernblot mit Zellkern-Antigenen.

Referenzbereich

negativ

Diagnostische Wertigkeit

Scl-70-Antikörper wurden je nach Untersuchungsmethode und Aktivität der Erkrankung bei 25-75 % der Patienten mit Progressiver Systemsklerose (diffuse Form) nachgewiesen.

Literatur

1. Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clinical Immunology and Immunopathology* 47(2):121-141
2. Fritzler MJ (1993) Autoantibodies in Scleroderma. *The Journal of Dermatology* 20(5):257-26
3. Hanke K, Dähnrich C, Brückner C, Huscher D, Becker M, Jansen A, Meyer W, Egerer K, Hiepe F, Burmester G, Schlumberger W, Riemekasten G (2009) Diagnostic value of anti-topoisomerase I antibodies in a large monocentric cohort. *Arthritis Res Ther* 11(1):R28.

Autoantikörper gegen SLA

Synonym(e)

Anti-SLA/LP-Antikörper, Autoantikörper gegen lösliches Leberantigen, Anti-Leber/Pankreas-Antigen

Englischer Begriff

Autoantibodies to SLA/LP (soluble liver antigen / liver pancreas antigen)

Definition

Ein für die Diagnostik der Autoimmunhepatitis (AIH) relevanter Autoantikörper gegen ein unter anderem in Leber und Pankreas exprimiertes Antigen.

Funktion und Pathophysiologie

Die Identifizierung von SLA/LP auf DNS-Ebene gelang 1998 durch Klonierung des Zielantigens. SLA/LP ist vermutlich ein cytoplasmatisches Enzym mit einem Molekulargewicht von 50 kDa, das bei der Regulation der Selenoproteinbiosynthese eine Rolle spielt (ein UGA-Suppressor-tRNS-assoziiertes Protein). Die bisherigen Beschreibungen des SLA als Leber-Cytokeratin 8 und 18 bzw. als Glutathion-S-Transferase erwiesen sich als offenbar falsch.

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu 2 Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen SLA/LP lassen sich mit Enzymimmuntests unter Verwendung eines rekombinanten Antigens sensitiv und spezifisch nachweisen. Klassische Westernblot eignen sich nicht für den Nachweis dieser Antikörper, da zum einen die Verwendung von denaturiertem SLA/LP zu einer verringerten Nachweisempfindlichkeit führt, zum anderen eine positive Bandenreaktion in Höhe von 50 kDa auch durch andere nicht identifizierte Autoantikörper verursacht sein kann.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Unklare Erhöhung der Transaminasen, Verdacht auf Autoimmunhepatitis.

Diagnostische Wertigkeit

Antikörper gegen SLA/LP bieten von allen Autoantikörpern die für die Autoimmunhepatitis höchste diagnostische Treffsicherheit. Anti-SLA/LP treten bei AIH allein oder zusammen mit weiteren Autoantikörpern auf. Ihre Prävalenz liegt allerdings nur zwischen 10 % und 30 %, der prädiktive Wert aber bei nahezu 100 %: Im Wesentlichen bietet jedes positive Anti-SLA-Ergebnis den Beweis für eine Autoimmunhepatitis (sofern die entsprechenden klinischen Symptome vorliegen).

Die serologische Bestimmung der Autoantikörper gegen SLA/LP ermöglicht bei vielen Patienten mit AIH eine präzise Abgrenzung zur Virushepatitis, die für die hepatologische Klinik maßgebliche Konsequenzen hat: Die Fehlbehandlung einer AIH mit Interferon kann ebenso fatale Folgen haben wie eine immunsuppressive Therapie der Virusinfektion.

Zur Abgrenzung gegenüber einer Virushepatitis ist die parallele Bestimmung der übrigen AIH-assoziierten Autoantikörper zu empfehlen, wie z. B. ANA, pANCA, ASMA oder Antikörper gegen LC-1 und LKM.

Literatur

1. Baeres M, Herkel J, Czaja AJ, Wies I, Kanzler S, Cancado ELR, Porta G, Nishioka M, Simon T, Daehnrich C, Schlumberger W, Galle PR, Lohse AW (2002) Establishment of standardized SLA/LP immunoassays: specificity for autoimmune hepatitis, worldwide occurrence, and clinical characteristics. *Gut* 51(2):259-264
2. Berg PA, Stechemesser E, Strienz J (1981) Hypergammaglobulinämische chronisch aktive Hepatitis mit Nachweis von Leber-Pankreas-spezifischen komplementbindenden Autoantikörpern. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin* 87:921-927
3. Wies I, Brunner S, Henninger J, Herkel J, Kanzler S, Meyer zum Büschenfelde K-H, Lohse AW (2000) Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 355(9214):1510-1515

Autoantikörper gegen Sm

Synonym(e)

Sm-Antikörper, Anti-Sm (Bezeichnung abgeleitet vom Namen des Indikator-Patienten Smith)

Englischer Begriff

Anti-Sm antibodies

Definition

Bei den korrespondierenden Antigenen handelt es sich um eine Gruppe kleiner Ribonukleoproteine (small nuclear ribonucleoproteins, snRNP), die aus niedermolekularer RNS mit hohem Uridingehalt (U-RNS) und verschiedenen Proteinen (Molekulargewichte 9-70 kDa) besteht. Der RNS-Anteil wird in Abhängigkeit vom chromatographischen Verhalten als U1 bis U6 bezeichnet. Die U-n(nukleären)RNP-Partikel weisen neben der jeweiligen RNS je sechs verschiedene Core-Proteine auf (B, B', D, E, F, G). Antikörper gegen Sm können gegen eines oder mehrere dieser Core-Proteine gerichtet sein.

Funktion und Pathophysiologie

Antikörper gegen Sm besitzen eine hohe Spezifität für den systemischen Lupus erythematoses.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen Sm zeigen in der indirekten Immunfluoreszenz (IIFT) auf HEp-2 Zellen in der Regel eine grobgranuläre, manchmal auch eine mittel- bis feingranuläre Fluoreszenz, die über den gesamten Zellkern verteilt ist, aber die Nukleoli frei lässt. In Mitose-Zellen sind die kondensierten Chromosomen dunkel, die Peripherie zeigt eine fast homogene, glatte Fluoreszenz. Gewebeschnitte der Primatenleber weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, die Nukleoli sind ausgespart. Antikörper gegen U1-nRNP und Sm reagieren mit der Primatenleber ebenso stark wie mit HEp-2-Zellen, im Gegensatz zu Antikörpern gegen Ro/SS-A und La/SS-B.

Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur genauen Identifizierung des Zielantigens ein monospezifischer Test (ELISA, Linienblot) mit nativ aufgereinigten Sm-Antigenen oder ein Westernblot mit Zellkern-Antigenen eingesetzt werden.

Referenzbereich — Frauen

Titer <1:100

Referenzbereich — Männer

Titer <1:100

Referenzbereich — Kinder

Titer <1:100

Interpretation

Antikörper gegen Sm besitzen eine hohe Spezifität für den systemischen Lupus erythematoses. Sie sind neben den Antikörpern gegen dsDNS, Nukleosomen und ribosomales P-Protein als pathognomonisch für diese Erkrankung einzustufen, kommen aber nur bei 20-40 % der Patienten vor (Kaukasier 8 %, Negroide 30 %).

Literatur

Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clinical Immunology and Immunopathology* 47(2):121-141

Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Ausführungsgänge der Speicheldrüsen, Parotis-Antikörper

Englischer Begriff

Antibodies against saliva gland excretory ducts

Definition

Autoantikörper gegen Antigene der Speicheldrüsen-Ausführungsgänge

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest mit dem Substrat Parotis (Ausgangsverdünnung 1:10) zeigen Autoantikörper gegen Speicheldrüsenangepithel eine glatte bis feingranuläre Färbung des Cytoplasma der Epithelzellen.

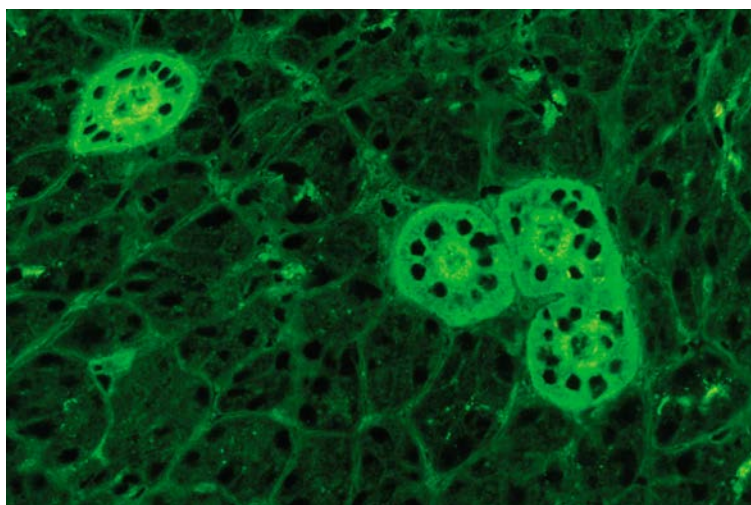


Abb. 76 Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge.
Substrat Parotis, Prim.

Der parallele Einsatz des Substrats Rattenniere zur Parotis dient dem Ausschluss von Antikörpern gegen Mitochondrien (AMA), deren Bindung an das Parotidgewebe das Vorliegen eines Speicheldrüsen-spezifischen Antikörpers vortäuschen kann.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge werden bei 40-60 % der Patienten mit primärem Sjögren-Syndrom nachgewiesen.

Literatur

MacSween RN, Goudie RB, Anderson JR, Armstrong E, Murray MA, Mason DK, Jasani MK, Boyle JA, Buchanan WW, Williamson J (1967) Occurrence of antibody to salivary duct epithelium in Sjogren's disease, rheumatoid arthritis, and other arthritides. A clinical and laboratory study. Ann Rheum Dis 26(5):402-411

Autoantikörper gegen Spindelapparat

Synonym(e)

Autoantikörper gegen MSA-1: "Nukleäres Mitoseapparat-(NuMA-)Protein", gegen MSA-2: HsEg5, gegen Zentriolen (siehe dort) und Midbody (siehe dort)

Englischer Begriff

Anti-NuMA (nuclear mitotic apparatus) antibodies

Definition

MSA-1 steht synonym für die unzuweckmäßige (in der Mitose gibt es keinen Zellkern) Bezeichnung NuMA. MSA-2 ist das Protein HsEg5 („Human spindle kinesin-like protein HsEg5“).

Molmasse

MSA-1 (NuMA): 210 kDa, MSA-2 (HsEg5): 116-130 kDa

Funktion und Pathophysiologie

In der Interphase ist MSA-1 Bestandteil der Kernmatrix, während der Mitose findet man es an den Spindelpolen, in der Nähe der Zentriolen, es wirkt mit bei der Formation der Spindeln.

MSA-2 ist am Spindelfaser-Aufbau und an der Abwicklung der Mitose maßgeblich beteiligt.

Untersuchungsmaterial

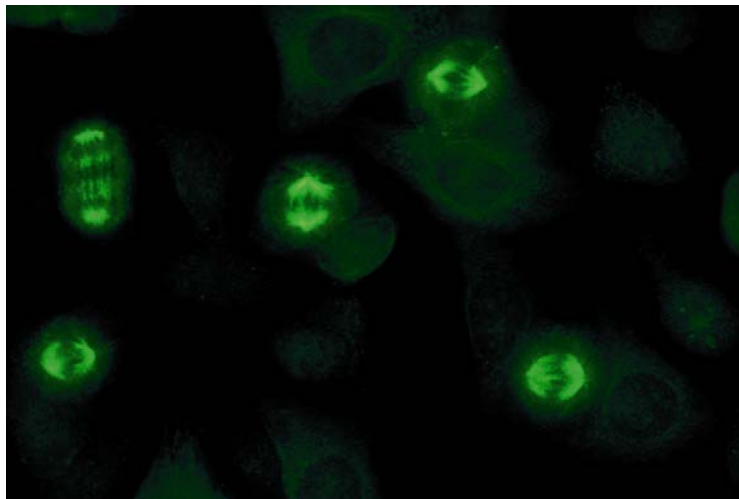
Serum oder Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Im indirekten Immunfluoreszenztest (Ausgangsverdünnung 1:100, FITC-Antihuman-IgG) zeigen HEP-2-Zellen mit Antikörpern gegen MSA-1 in der Interphase eine feingranuläre bis retikuläre Fluoreszenz der Kernmatrix, unter Auslassung der Nukleoli, bei den mitotischen Zellen stellen sich in der Metaphase die Spindelfasern als zwei sich gegenüberliegende Fächer dar, mit dem Schwerpunkt Anfärbung in Richtung der Zentriolen. Es kann alternativ zur Immunfluoreszenz auch ein speziell für große Moleküle ausgelegter Westernblot eingesetzt werden, der bei Vorliegen der Anti-NuMA eine Bande bei 210 kDa zeigt.



**Abb. 77 Autoantikörper gegen Spindelapparat.
Substrat HEP-2-Zellen.**

Im Vergleich dazu sind bei Antikörpern gegen HsEg5 („NuMA-2“, 116 kDa) allein die Spindelfasern der mitotischen Zellen, aber nicht die Zellkerne der Interphasezellen angefärbt.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Die Untersuchung wird normalerweise nicht gezielt angefordert, die Antikörper werden oft nur durch Zufall entdeckt.

Diagnostische Wertigkeit

Antikörper gegen MSA-1 (NuMA-1) können unter anderem bei Sjögren-Syndrom und verschiedenen Formen von Arthritis vorkommen, gelegentlich auch bei Anti-Phospholipid-Syndrom (APS) und bei systemischem Lupus erythematoses (SLE).

Antikörper gegen MSA-2 (HsEg5) kommen bei verschiedenen Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises vor, unter anderem bei SLE.

Hohe Titer der Autoantikörper gegen Zentriolen/Zentrosomen weisen auf eine Progressive Systemsklerose oder ein Raynaud-Syndrom hin.

Literatur

1. Andrade LE, Chan EK, Peebles CL, Tan EM (1996) Two major autoantigen-antibody systems of the mitotic spindle apparatus. *Arthritis Rheum* 39(10):1643-1653
2. Whitehead CM, Winkfein RJ, Fritzler MJ, Rattner JB (1996) The spindle kinesin-like protein HsEg5 is an autoantigen in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39(10):1635-1642
3. Grypiotis P, Ruffatti A, Tonello M, Winzler C, Radu C, Zampieri S, Favaro M, Calligaro A, Todesco S (2002) Clinical significance of fluoroscopic patterns specific for the mitotic spindle in patients with rheumatic diseases. *Reumatismo* 54(3):232-237
4. Bonaci-Nikolic B, Andrejevic S, Bukilica M, Urosevic I, Nikolic M (2006) Autoantibodies to mitotic apparatus: Association with other autoantibodies and their clinical significance. *J Clin Immunol* 26(5):438-446
5. Mozo L, Gutiérrez C, Gómez J (2008) Antibodies to mitotic spindle apparatus: Clinical significance of NuMA and HsEg5 autoantibodies. *J Clin Immunol* 28(4):285-290

Autoantikörper gegen SRP54

Synonym(e)

Anti-SRP, Autoantikörper gegen Signal-Erkennungs-Partikel, Antikörper gegen SRP

Englischer Begriff

Anti-SRP, autoantibodies against Signal Recognition Particle

Definition

Autoantikörper gegen SRP richten sich primär gegen das 54 kDa-Protein des SRP-Komplexes, der aus 7S-RNS und 6 Proteinen mit Molekularmassen zwischen 9 und 72 kDa besteht.

Funktion und Pathophysiologie

Die Synthese aller sekretorischen Proteine beginnt zunächst mit einer kurzen Signalsequenz aus hydrophoben Aminosäuren. SRP erkennt diese Signalsequenz und vermittelt die Bindung der an der Proteinsynthese beteiligten Ribosomen an das endoplasmatische Retikulum, worauf die Synthese gestartet wird und ein gerichteter Transport des Proteins durch die Membran des endoplasmatischen Retikulum in dessen Lumen erfolgt.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Antikörper gegen SRP führen in der indirekten Immunfluoreszenz zu einer vorwiegend cytoplasmatischen, glatten bis feingranulären Fluoreszenz bei HEp-2-Zellen. Bei den mitotischen Zellen ist diese Fluoreszenz perichromosomal intensiviert, die Chromosomen bleiben ausgespart. Das Muster ist ähnlich wie bei Antikörpern gegen ribosomales P-Protein, mit dem Unterschied, dass Antikörper gegen SRP keine zusätzliche Fluoreszenz an Hepatocyten bei parallel untersuchter Primatenleber zeigen.

Ausgangsverdünnung ist 1:100, relevant sind vorwiegend Antikörper der Klasse IgG.

Alternativ stehen monospezifische Tests mit rekombinantem SRP54 zur Verfügung, üblicherweise als Linienblot kombiniert mit weiteren Myositis-assoziierten Zielantigenen.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Patienten mit Anti-SRP-Antikörpern haben meist eine akut beginnende Polymyositis, häufig mit schwerem Verlauf. Die Antikörperprävalenz beträgt 3-4 %. Eine Beteiligung von Lunge, Haut oder Gelenken ist, im Gegensatz zu Patienten mit Antikörpern gegen Aminoacyl-tRNS-Synthetasen, nicht beschrieben.

Literatur

Reeves WH, Nigam SK, Blobel G (1986) Human autoantibodies reactive with the signal-recognition particle. Proc Natl Acad Sci 83:9507-9511

Autoantikörper gegen SS-A

Synonym(e)

Ro/SS-A-Antikörper, Anti-SS-A, Anti-Ro, Anti-Ro60, Anti-Sjögren-Syndrom-Antigen A

Englischer Begriff

Anti-SS-A autoantibodies

Definition

Ro/SS-A-Antikörper sind gegen Epitope der Proteinkomponente des Ro/SS-A-Ribonukleoprotein-Komplexes gerichtet. Dieser Komplex besteht aus je einem RNS-Molekül (Y1-, Y2-, Y3-, Y4- oder Y5-RNS) und einem Protein mit einem Molekulargewicht von 60 kDa. Die biologische Funktion des Ro60 ist unklar. Cytoplasmatisches Ro60 scheint an der Regulation der Translation, nukleäres Ro60 an der Herstellung korrekter 5S rRNS beteiligt zu sein. Es ist vorwiegend im Zellkern lokalisiert, kommt aber auch im Cytoplasma vor. Angaben, dass ein weiteres Protein mit einem Molekulargewicht von 52 kDa ebenfalls integraler Bestandteil des Ro/SS-A-Antigens ist, haben sich als falsch erwiesen. Antikörper gegen das 52-kDa-Protein (Ro52) haben nichts mit Ro/SS-A-Antikörpern zu tun.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Autoantikörper gegen SS-A ergeben im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEp-2-Zellen in der Interphase eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Die Nukleoli erscheinen ebenfalls positiv, sind aber vom Karyoplasma etwas abgesetzt, bei einem Teil der Proben sind sie ausgespart. Mitotische Zellen weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, unter Freilassung der Chromosomen. Auf Primatenleber fehlt die entsprechende granuläre Reaktion der Hepatocytenkerne, dagegen zeigen sich dort bei höheren Antikörpertitern glatt fluoreszierende Nukleoli. Im Gegensatz dazu erzeugen die differentialdiagnostisch wichtigen Autoantikörper gegen U1-nRNP und Sm bei den Hepatocyten eine gleich starke granuläre Kernfluoreszenz wie bei den HEp-2-Zellen. Vereinzelt Zellen in den Sinusoiden der Leber (Lymphocyten, Monocyten) ergeben auch mit SS-A-Antikörpern eine starke Reaktion.

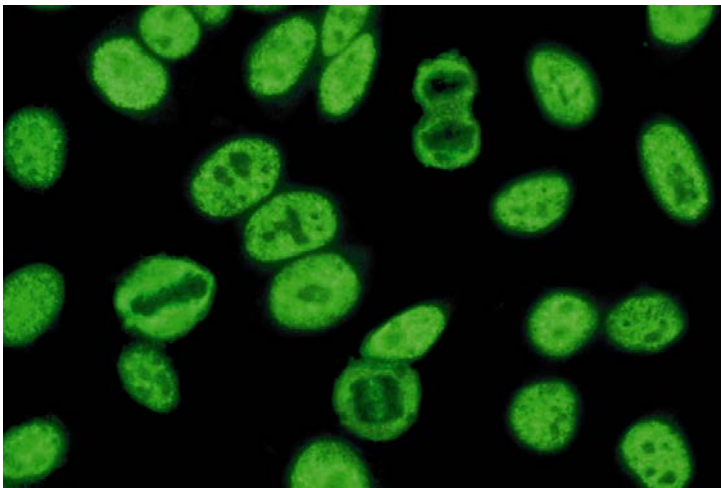


Abb. 78 Autoantikörper gegen SS-A.
Substrat HEp-2-Zellen.

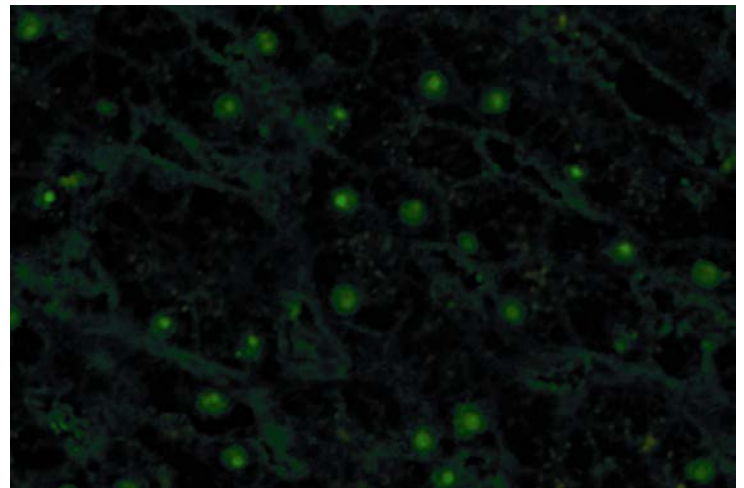


Abb. 79 Autoantikörper gegen SS-A.
Substrat Primatenleber.

Bei einem positiven Resultat im IIFT können zur genauen Identifizierung der Antikörper monospezifische Tests (ELISA, Linienblot) mit nativ aufgereinigtem oder rekombinantem SS-A-Antigen (60-kDa-Protein) oder Westernblots mit nativen Zellkern-Antigenen eingesetzt werden.

Im Linienblot- und im Westernblot-Verfahren kann man des weiteren Antikörper identifizieren, die mit dem 52-kDa-Protein reagieren, parallel zu den Antikörpern gegen die 60-kDa-Bande.

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Ro/SS-A-Antikörper (60 kDa, Ro60) sind charakteristische serologische Marker des Sjögren-Syndroms, bei dem sie meist zusammen mit La/SS-B-Antikörpern auftreten, die Prävalenz beträgt 40-95 %. Darüber hinaus kommen beide Antikörper in 20 % bei Primär-biliärer Lebercirrhose vor. Vorwiegend ohne SS-B-Reaktivität lassen sich An-

tikörper gegen SS-A auch bei systemischem Lupus erythematoses (SLE) (20-60 %) nachweisen, und bei Lupus neonatorum (neonatales Lupus-Syndrom mit kongenitalem Herzblock, verursacht durch diaplazentar übertragene Anti-SS-A; 100 %).

Antikörper gegen Ro52 wurden ursprünglich bei Patienten mit Sjögren-Syndrom oder mit Lupus erythematoses (38 %) beschrieben, danach aber auch bei Polymyositis (31 %), Progressiver Systemsklerose (28 %), Autoimmunhepatitis (35 %), PBC (27 %), Hepatitis B (10 %) und Hepatitis C (22 %). Sie geben zwar einen Hinweis auf das Vorliegen einer Autoimmunkrankheit, haben aber keine Bedeutung für die Differentialdiagnostik. Eine besondere Bedeutung der Antikörper gegen Ro52 wurde früher in der Pathogenese und Diagnostik des kongenitalen Herzblocks bei Säuglingen gesehen, bei isoliertem Anti-Ro52 ist aber die Wahrscheinlichkeit eines kongenitalen Herzblocks niedrig, sie steigt stark an, wenn Autoantikörper gegen SS-A und SS-B hinzukommen. Bei Schwangeren mit SLE sollten daher immer alle drei Spezifitäten untersucht werden, mehrmals im Verlauf der Schwangerschaft.

Literatur

1. Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol* 47(2):121-141
2. Boire G, Gendron M, Monast N, Bastin B, Ménard HA (1995) Purification of antigenically intact Ro ribonucleoproteins; biochemical and immunological evidence that the 52-kDa protein is not a Ro protein. *Clin exp Immunol* 100(3):489-498
3. Meyer W, Scheper T, Siegemund M, Takeuchi K, Schlumberger W, Stöcker W (2004) The SS-A/Ro60 kDa protein is sufficient for the detection of autoantibodies against SS-A. In: Conrad K et al. (Hrsg). *From animal models to human genetics: Research on the induction and pathogenicity of autoantibodies*. Pabst Science Publishers 4:525-526
4. Gordon P, Khamashta MA, Rosenthal E, Simpson JM, Sharland G, Brucato A, Franceschini F, De Bosschere K, Meheus L, Meroni PL, Hughes GR, Buyon J (2004) Anti-52 kDa Ro, anti-60 kDa Ro, and anti-La antibody profiles in neonatal lupus. *J Rheumatol* 31(12):2480-2487

Autoantikörper gegen SS-B

Synonym(e)

La/SS-B-Antikörper, Anti-SS-B, anti-La, Anti-Sjögren-Syndrom-Antigen-B-Antikörper

Englischer Begriff

Anti SS-B autoantibodies

Definition

La/SS-B-Antikörper sind gegen ein Phosphoprotein mit einem Molekulargewicht von 48 kDa gerichtet. Das Antigen ist vorwiegend im Zellkern lokalisiert, nur 10 % des Antigens kommen auch im Cytoplasma vor.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen La/SS-B ergeben im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) ähnliche Bilder wie Antikörper gegen Ro/SS-A: HEp-2-Zellen zeigen in der Interphase eine feingranuläre Fluoreszenz der Zellkerne. Die Nukleoli erscheinen ebenfalls positiv, sind aber vom Karyoplasma etwas abgesetzt, bei einem Teil der Proben sind sie ausgespart. Mitotische Zellen weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, unter Freilassung der Chromosomen. Auf Primatenleber fehlt die entsprechende granuläre Reaktion der Hepatocytenkerne, dagegen zeigen sich dort bei höheren Antikörpertitern glatt fluoreszierende Nukleoli. Im Gegensatz dazu erzeugen die differentialdiagnostisch wichtigen Autoantikörper gegen U1-nRNP und Sm bei den Hepatocyten eine gleich starke granuläre Kernfluoreszenz wie bei den HEp-2-Zellen. Vereinzelt Zellen in den Sinusoiden der Leber (Lymphocyten, Monocyten) ergeben auch mit SS-A-Antikörpern eine starke Reaktion.

Bei einem positiven Resultat im IIFT können zur genauen Identifizierung der Antikörper monospezifische Tests (ELISA, Linienblot) mit nativ aufgereinigtem oder rekombinantem SS-B-Antigen oder Westernblots mit nativen Zellkern-Antigenen eingesetzt werden.

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

La/SS-B-Antikörper sind zusammen mit Ro/SS-A-Antikörpern die charakteristischen serologischen Marker des Sjögren-Syndroms, die Prävalenz beträgt jeweils 40-95 %. Darüber hinaus kommen beide Antikörper zu 20 % bei Primär-biliärer Lebercirrhose vor.

La/SS-B-Antikörper treten nur sehr selten in Abwesenheit von Ro/SS-A-Antikörpern auf.

Literatur

Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. Clin Immunol Immunopathol 47(2):121-141

Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen

Englischer Begriff

Steroid hormone producing cell autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen richten sich gegen Zielantigene folgender endokriner Organe: Nebennierenrinde (Zonae glomerulosa, fasciculata und reticularis), Ovarien (Thecazellen, Corpus luteum), Testes (Leydig'sche Zwischenzellen) und Plazenta (Syncytiotrophoblast).

Funktion und Pathophysiologie

Zielantigene dieser Autoantikörper sind mehrere an der Synthese der Steroidhormone beteiligte Enzyme, vor allem die Steroid-21-Hydroxylase (21-OH), die Steroid-17- α -Hydroxylase (17-OH) und das Cytochrom-P450 side chain cleavage enzyme (P450scc). 21-OH kommt nur in der Nebennierenrinde vor und wandelt dort 17- α -Progesteron und Progesteron in 11-Desoxycortisol und Desoxycorticosteron um. 17-OH wird in den Gonaden und in der Nebenniere exprimiert, während P450scc in Nebenniere, Gonaden und Plazenta exprimiert wird.

Die Autoantikörper sind assoziiert mit dem Morbus Addison und mit verschiedenen Formen der Autoimmun-Polyendokrinopathie (APE). Von diesen ist der seltene Typ 1 ein Syndrom mit mucocutaner Candidiasis, Hypoparathyreoidismus, M. Addison und hypergonadotropem Hypogonadismus. Die häufigeren APE-Typen 2 und 3 sind definiert als Kombinationen von Autoimmunthyreoiditis, Autoimmun-Diabetes-mellitus, Vitiligo, Perniziöser Anämie und (nicht Typ 3) M. Addison.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Die indirekte Immunfluoreszenz mit Gefrierschnitten der Organe Nebennierenrinde, Ovar, Plazenta und Testis ist die Hauptnachweismethode für Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen. Einstiegsverdünnung ist 1:10. Untersucht werden mit trivalenten FITC-markierten Antiseren alle drei Immunglobulinklassen: IgA, IgG und IgM.

Daneben werden Antikörper gegen die einzelnen an der Hormonsynthese beteiligten Enzyme mit Radioimmunoassays unter Anwendung der Immunpräzipitation bestimmt.

Wegen des Zusammenhangs der Autoimmun-Polyendokrinopathien mit weiteren relevanten Autoantikörpern werden in der Immunfluoreszenz zusätzlich zu den oben genannten Organen oft auch noch eingesetzt: Primatenmagen (Autoantikörper gegen Parietalzellen), Schilddrüse (Autoantikörper gegen Thyreoperoxidase), Nebenschilddrüse, Pankreas (Autoantikörper gegen Pankreasinseln) und quergestreifte Muskeln. Solche Antikörperprofile werden am einfachsten unter Verwendung moderner „BIOCHIP-Mosaiken“ untersucht.

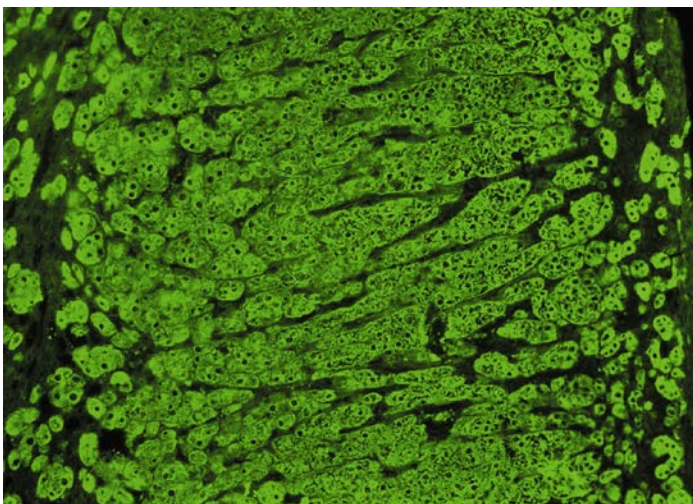


Abb. 80 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.
Autoantikörper gegen Nebennierenrinde.
Substrat Nebenniere, Prim.

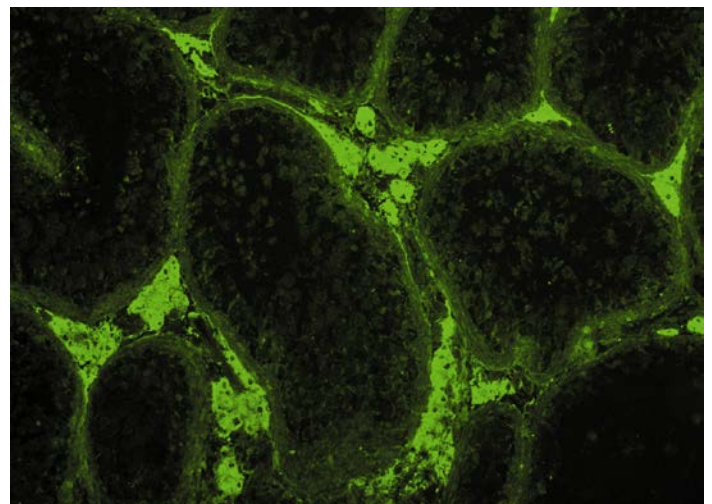
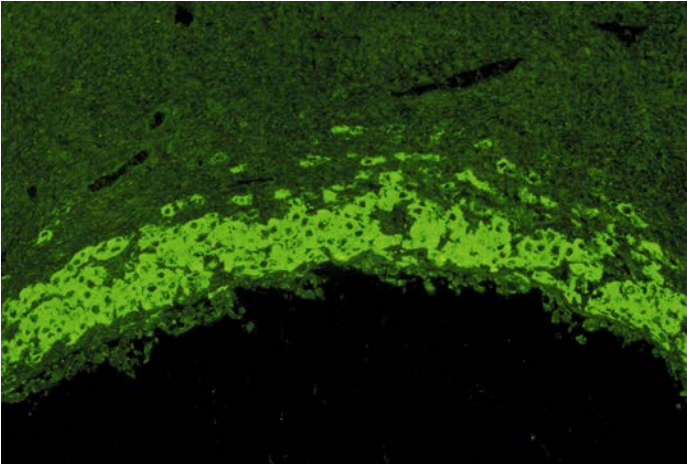
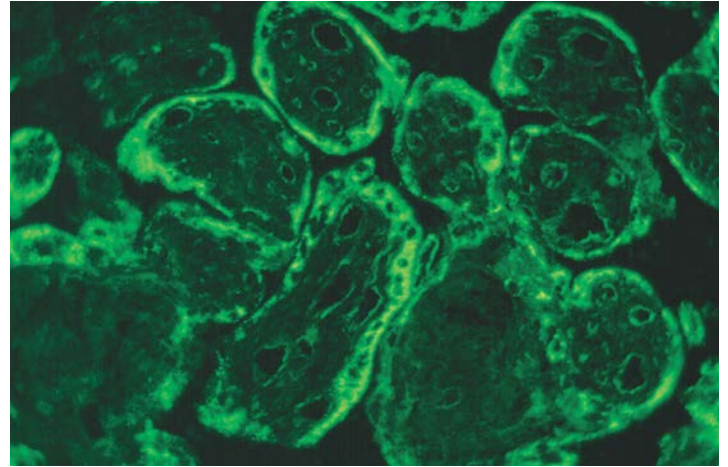


Abb. 81 Autoantikörper gegen Steroidhormon-produzierende Zellen.
Antikörper gegen Leydig'sche Zwischenzellen.
Substrat Testis, Prim.



**Abb. 82 Autoantikörper gegen Steroidhormonproduzierende Zellen.
Autoantikörper gegen Thecazellen.
Substrat Ovar, Prim.**



**Abb. 83 Autoantikörper gegen Steroidhormonproduzierende Zellen.
Antikörper gegen Leydig'sche Zwischenzellen.
Substrat Testis, Prim.**

Indikation

Autoantikörper gegen Steroidhormonproduzierende Zellen sind mit Morbus Addison (vgl. Autoantikörper gegen Nebennierenrinde) und Autoimmun-Polyendokrinopathien (APE) assoziiert. Bei isolierter Unterfunktion der Gonaden ausserhalb eines M. Addison oder einer APE spielen diese Autoantikörper nur ausnahmsweise eine Rolle.

Prävalenz (%)	Anti-21-OH	Anti-17-OH	Anti-P450scc
M. Addison	64-100	5	9
APE Typ 1	64	55	45
APE Typ 2	96	33	42
singuläre Ovarialinsuffizienz	0	6	0

Interpretation

Im Vordergrund stehen Antikörper gegen 21OH, die in einem gemischten Autoimmunadrenalis-Kollektiv bei 64-76 % der Fälle gefunden werden. Erfasst man nur die frisch erkrankten Patienten, dann steigt die Prävalenz auf nahezu 100 %. Anti-21-OH können bereits vor dem Ausbruch der Erkrankung im Serum festgestellt werden (ein M. Addison wird erst manifest, wenn 90 % der Nebenniere verloren sind). Anti-17-OH und Anti-P450scc sind bei Autoimmunadrenalis selten, wenn sie aber bei dieser Krankheit auftreten, deuten sie die Entwicklung einer Autoimmun-Polyendokrinopathie (Typen 1 und 2) an.

Ein Fünftel der anti-17-OH- und Anti-P450scc-positiven Seren enthält kein Anti-21-OH (bei Verdacht auf eine APE Typ 2 reicht es also nicht aus, sich allein auf das Anti-21OH-Ergebnis (bzw. auf die IIFT mit Nebenniere als Substrat) zu verlassen, auch in der Fluoreszenz müssen zusätzlich zur Nebenniere Testis und Ovar einbezogen werden).

Literatur

1. Anderson JR, Goudie RB, Gray K, Stuart Smith DA (1968) Immunological features of idiopathic Addison's disease: an antibody to cells producing steroid hormones. Clin Exp Immunol 3(2):107-117
2. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta F (2002) Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: Autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. Endocr Rev 23(3):327-364
3. Chen S, Sawicka J, Betterle C, Powell M, Prentice L, Volpato M, Rees Smith B, Furmaniak J (1996) Autoantibodies to steroidogenic enzymes in autoimmune polyglandular syndrome, Addison's disease, and premature ovarian failure. J Clin Endocrinol Metab 81:1871-6
4. Seissler J, Schott M, Steinbrenner H, Peterson P, Scherbaum WA (1999) Autoantibodies to adrenal cytochrome P450 antigens in isolated Addison's disease and autoimmune polyendocrine syndrome type II. Exp Clin Endocrinol Diabetes 107(3):208-13

Autoantikörper gegen Thrombocyten

Synonym(e)

Antithrombocytäre Antikörper, anti-HPA (HPA = Humane Plättchen Antigen)

Englischer Begriff

Thrombocyte antibodies, anti-human platelet antigen

Definition

Als Thrombocyten-Antikörper (TA) bezeichnet man Antikörper gegen Antigene der Thrombocytenoberfläche.

Synthese/Verteilung/Abbau/Elimination

Die korrespondierenden Antigene werden kodominant vererbt und zeigen in den meisten Fällen eine biallelische Ausprägung.

Antigen*	Ausprägung in %	Synonym [#]	Glykoprotein
HPA 1	a(97); b(26)	Zw a/b	IIIa
HPA 2	a(99); b(14)	Ko b/a	Ib
HPA 3	a(90); b(60)	Bak a/b	IIb
HPA 4	a(>99); b(<0,1)	Yuk b/a	IIIa
HPA 5	a(99); b(20)	Br b/a	Ia

*HPA=Human Platelet Antigen

[#]es existieren noch andere Nomenklaturen

Es sind noch weitere Antigensysteme bekannt. Der klinisch bedeutsamste Antikörper ist Anti-HPA-1a.

Funktion und Pathophysiologie

Ähnlich den Antikörpern gegen Erythrocytenantigene können TA als Auto- und Alloantikörper vorkommen. Viele Autoantikörper zeigen allerdings keine nachweisbare Spezifität gegen bestimmte Antigene, so dass sie in Zusammenhang mit Thrombocytentransfusionen funktionell als Alloantikörper zu betrachten sind. Die Antikörper binden sich an die Oberfläche der Thrombocyten, die das korrespondierende Antigen tragen, also entweder an eigene Thrombocyten (Autoantikörper) oder an transfundierte bzw. fetale Thrombocyten (Alloantikörper). Diese antikörperbeladenen Thrombocyten werden von Makrophagen des reticulo-endothelialen Systems abgebaut. Es kommt typischerweise *nicht* zu einer intravasalen Reaktion mit Komplementaktivierung. Deshalb werden normalerweise keine schwerwiegenden systemischen Symptome beobachtet, im Gegensatz zu Antikörpern gegen Erythrocytenantigene.

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Als Suchtests kommen verschiedene Systeme in Frage (direkte und indirekte Immunfluoreszenz mit Thrombocytenausstrichen oder am Flow-Cytometer, auch ELISA-ähnliche Verfahren). Ein positives Ergebnis hat allerdings nur dann einen gesicherten diagnostischen Wert, wenn die Spezifität der Antikörper gegen eines oder mehrere der definierten Glykoproteine erwiesen wurde. Hierfür wird der MAIPA (Monoclonal Antibody Immobilisation Platelet Assay) eingesetzt.

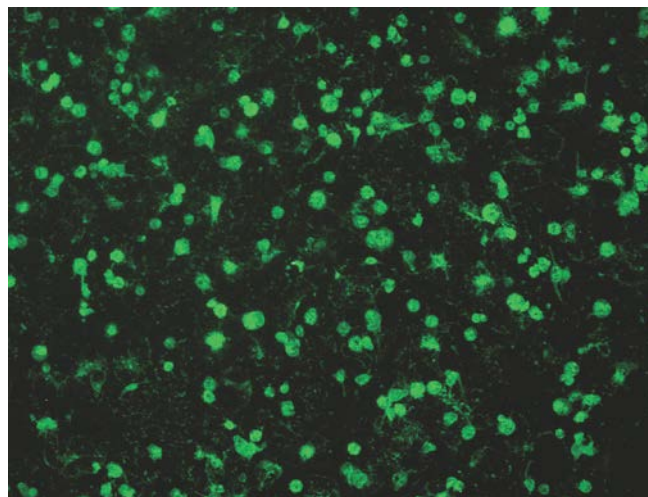


Abb. 84 Autoantikörper gegen Thrombocyten.
Substrat humaner Ausstrich.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Interpretation

Assoziierte Krankheitsbilder:

Autoantikörper:

- Autoimmunthrombocytopenie (idiopathisch-thrombocytopenische Purpura (ITP); M. Werlhoff; systemischer Lupus erythematoses (SLE))

Alloantikörper:

- Posttransfusionspurpura (durch Thrombocytentransfusionen hervorgerufene Alloantikörper kreuzreagieren mit eigenen Thrombocyten und verursachen ein Krankheitsbild, welches der ITP ähnlich ist.)
- Neonatale Immunthrombopenie (schwere Thrombopenie des Fetus und des Neugeborenen mit der Gefahr intrakranieller Blutungen, wegen funktioneller Störung der antikörperbeladenen Thrombocyten sind die Komplikationen schwerer als von der Zahl der Thrombocyten zu erwarten.)
- Die Transfusion von Thrombocytenkonzentraten führt nicht zu einem messbaren Anstieg der Thrombocytenzahlen.

Positive Befunde sind nur in Verbindung mit den charakteristischen klinischen Symptomen relevant. Negative Befunde schließen keines der genannten Krankheitsbilder aus.

Literatur

Mueller-Eckhard C (1996) Transfusionsmedizin. Springer, Berlin Heidelberg New York

Autoantikörper gegen Thyreoglobulin

Synonym(e)

Thyreoglobulin-Antikörper, Anti-TG

Englischer Begriff

Thyroglobulin antibodies

Definition

Thyreoglobulin (TG) ist ein Glykoprotein, das bei der Speicherung der Schilddrüsenhormone T3 (Triiodthyronin) und T4 (Thyroxin) eine wichtige Rolle spielt: T3 und T4 werden von den Zellen des Schilddrüsenepithels synthetisiert und, an Thyreoglobulin gebunden, in den Follikeln der Schilddrüse gespeichert. Zur Hormonfreisetzung werden T3 und T4 vom Thyreoglobulin abgespalten und ins Blut abgegeben.

Untersuchungsmaterial

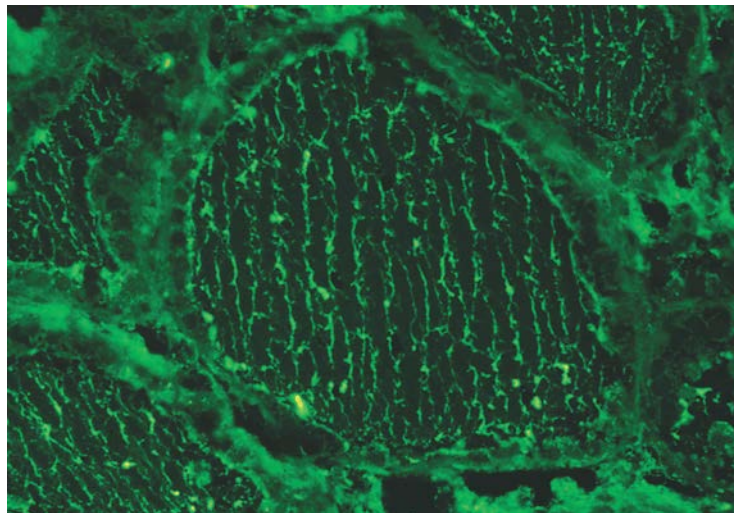
Serum/Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Goldstandard für die Bestimmung der Autoantikörper gegen TG und TPO ist die indirekte Immunfluoreszenz (IIFT) mit Gefrierschnitten der Schilddrüse als Substrat. Antikörper gegen TG reagieren mit dem Kolloid der Follikel und erzeugen ein streifiges oder netzartiges Bild.



**Abb. 85 Autoantikörper gegen Thyreoglobulin.
Substrat Primatenschilddrüse (unfixiert).**

Es können auch monospezifische Testsysteme (ELISA, RIA, Immunblot und andere) mit nativ aufgereinigtem Thyreoglobulin verwendet werden. Die unterschiedlichen auf dem Markt befindlichen Testsysteme zeigen untereinander bei der Bestimmung dieses Autoantikörpers schon immer eine ausgesprochen schlechte Korrelation (bei Anti-TPO sind die Verhältnisse günstiger).

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Hashimoto-Thyreoiditis, Morbus Basedow

Bei differenziertem Schilddrüsenkarzinom werden Antikörper gegen TG untersucht, weil sie die korrekte Bestimmung der TG-Konzentration im Serum beeinträchtigen können (Tumormarker).

Interpretation

Autoantikörper gegen TG sind mit der Autoimmunthyreoiditis assoziiert. Diese kann sich in Form einer Schilddrüsenüberfunktion (Hyperthyreose, z. B. M. Basedow) manifestieren, oder in einer Unterfunktion (Hypothyreose, z. B. Hashimoto-Thyreoiditis), siehe Autoantikörper gegen Thyreoperoxidase.

Für die Diagnose eines M. Basedow gelten vor allem Autoantikörper gegen TPO und gegen Thyreoidea-stimulierendes-Hormon (TSH)-Rezeptoren (TRAk) als diagnostisch relevante Parameter, Anti-TG-Antikörper treten hier nur bei 20-50 % der Patienten auf. Dagegen beträgt ihre Prävalenz bei Hashimoto-Thyreoiditis 70 %.

Diagnostische Wertigkeit

Die diagnostische Bedeutung der Autoantikörper gegen Thyroglobulin für die Erkennung der Autoimmunthyreoiditis ist im Vergleich zu TSH-Rezeptor-Antikörpern und Thyreoperoxidase-Antikörpern begrenzt, ihre Bestimmung im Rahmen der endokrinologischen Differentialdiagnostik wird von der Sektion Schilddrüse der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie nicht mehr empfohlen.

Literatur

Gentile F, Conte M, Formisano S (2004) Thyroglobulin as an autoantigen: What we can learn about immunopathogenicity from the correlation of antigenic properties with protein structure? *Immunology* 112:13-25

Autoantikörper gegen Thyreoperoxidase

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Schilddrüsen-Mikrosomen, MAK, Thyreoperoxidase-Antikörper, TAK, Anti-TPO.
Ungünstige Bezeichnung: „mikrosomale Antikörper“

Englischer Begriff

Antibodies against thyroid peroxidase

Definition

Antikörper richten sich gegen Schilddrüsen-Mikrosomen mit dem wichtigsten Zielantigen Thyreoperoxidase – das für die Jodanreicherung maßgebliche und nur von der Schilddrüse exprimierte Enzym.

Funktion und Pathophysiologie

Autoimmune Schilddrüsenerkrankungen können sich als hyperthyreote und als hypothyreote Funktionsstörungen manifestieren. Sie treten deutlich häufiger bei Frauen (Prävalenz 2 %) als bei Männern (0,2 %) auf.

Etwa 60 % aller Hyperthyreosen werden dem Morbus Basedow zugerechnet. Serologisch gelten Autoantikörper gegen TSH-Rezeptoren der Schilddrüse als diagnostische Marker, in Fällen mit Normalwerten kann der Nachweis von Antikörpern gegen TPO die Diagnose unterstützen. Häufig werden zudem Antikörper gegen Thyreoglobulin (Anti-TG) gefunden.

Die zweite wichtige Autoimmunerkrankung der Schilddrüse ist die Hashimoto-Thyreoiditis, die klinisch oft unauffällig beginnt, aber im Laufe der Jahre in eine Hypothyreose münden kann.

Erkrankung	Prävalenz in %	
	Anti-TPO	Anti-TG
M. Basedow	90	20-50
Hashimoto-Thyreoiditis	70	70

Eine Sonderform der Autoimmunthyreoiditis ist die Postpartum-Thyreoiditis, eine vorübergehende hypothyreote Funktionsstörung der Schilddrüse, die mit hohen Titern der Anti-TPO-Antikörper einhergeht. Von dieser Erkrankung sind ca. 5 % der Frauen betroffen. Das Risiko ist besonders hoch, wenn gleichzeitig ein Insulin-abhängiger Diabetes mellitus vorliegt. Bei allen Wöchnerinnen wäre die Messung von Anti-TPO-Antikörpern empfehlenswert, da sie im Erkrankungsfall einer Hormonsubstitution bedürfen.

Die Autoimmunthyreoiditis ist häufig kombiniert mit anderen Autoimmunerkrankungen (Myasthenia gravis, Perniziöse Anämie, Morbus Addison).

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

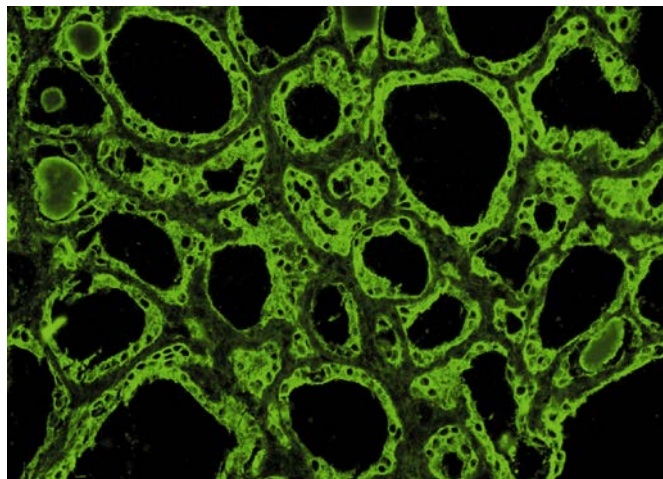
Probenstabilität

Serumproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Goldstandard für die Bestimmung der Autoantikörper gegen TG und TPO ist die indirekte Immunfluoreszenz (IIF) mit Gewebeschnitten der Schilddrüse von Primaten (möglichst chirurgisches humanes Resektionsmaterial). Antikörper gegen TPO ergeben eine glatte Fluoreszenz des Cytoplasma der Follikelepithelzellen. Die Kombination mehrerer Gewebeschnitte („Bunter Schnitt“, „BIOCHIP-Mosaik“) ermöglicht die Untersuchung von Antikörperprofilen, z. B. um eine Autoimmun-Polyendokrinopathie zu verifizieren. Die Kombination aus Schilddrüse und Ratteniere erleichtert eine sichere Abgrenzung zu Antikörpern gegen Mitochondrien.

Zur Quantifizierung können monospezifische Testsysteme (ELISA, RIA) mit nativem oder rekombinantem TPO verwendet werden. Der Nachweis mit Hilfe des Immunblot ist ebenfalls möglich. Die verschiedenen auf dem Markt befindlichen Testsysteme zeigen untereinander eine gute Übereinstimmung.



**Abb. 86 Autoantikörper gegen Schilddrüsen-spezifische Peroxidase.
Substrat Primatenschilddrüse (unfixiert).**

Indikation

Hashimoto-Thyreoiditis, Morbus Basedow, Wöchnerinnen, insbesondere mit Insulin-abhängigem Diabetes mellitus. In erster Linie Unterscheidung zwischen hyperthyreoter Autoimmunthyreoiditis und diffuser Autonomie, die ohne Antikörperbestimmung nicht möglich ist.

Autoantikörper gegen Titin

Synonym(e)

Titin-Antikörper

Englischer Begriff

Titin antibodies

Definition

Autoantikörper gegen das Skelettmuskel-Strukturprotein Titin.

Struktur

Titin ist ein Protein der quergestreiften Muskulatur mit einem Molekulargewicht von etwa 3.000 kDa – das größte Protein im Organismus. Es bildet in den Myofibrillen der Vertebraten ein Filamentsystem, das wichtig für die strukturelle Integrität und Elastizität der Muskulatur ist. Die immunogenen Regionen des Titins liegen auf einem Proteinfragment mit einem Molekulargewicht von 30 kDa.

Funktion und Pathophysiologie

Titin ist das erst 1990 identifizierte Zielantigen der Myasthenia-gravis-assoziierten Autoantikörper gegen quergestreifte Muskeln.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Titin-Antikörper zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest auf Skelettmuskulatur und Herz eine typische Querstreifung. Die Ausgangsverdünnung ist 1:100. Klinisch signifikant sind Titer ab 1:1.000. Für den spezifischeren Nachweis der Anti-Titin-Antikörper stehen auch ELISA zur Verfügung, sie verwenden als Antigen-Substrat rekombinant hergestelltes MGT30-Peptid (die immunogenen Molekülabschnitte aus Titin).

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Myasthenia gravis

Interpretation

Antikörper gegen Titin treten zusätzlich zu den Acetylcholinrezeptor-Antikörpern (ACHRAB) auf. Die Präsenz der Titin-Antikörper deutet tendenziell auf das Vorliegen eines Thymoms neben der Myasthenia gravis (MG).

Prävalenz (%)	MG	MG + Thymom
ACHRAB	85	100
Quergestr. Muskeln	34	75
Titin	34	95

Literatur

1. Aarli JA, Stefansson K, Marton LS, Wollmann RL (1990) Patients with myasthenia gravis and thymoma have in their sera IgG autoantibodies against titin. Clin Exp Immunol 82(2):284-288
2. Romi F, Skeie GO, Aarli JA, Gilhus NE (2000) Muscle autoantibodies in subgroups of myasthenia gravis patients. J Neurol 247(5):369-75

Autoantikörper gegen Tr

Synonym(e)

Tr-Autoantikörper, PCA-Tr-Autoantikörper

Englischer Begriff

Tr autoantibodies, PCA-Tr autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen ein Protein im Cytoplasma der Purkinje-Zellen des Kleinhirns mit unbekanntem Molekulargewicht. Siehe auch: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene.

Funktion und Pathophysiologie

Tr-Proteine werden sowohl in peripheren und zentralen Neuronen exprimiert, als auch im Tumorgewebe Antikörper-positiver Patienten.

Analytik

Die Bestimmung der Autoantikörper gegen Tr ist nur mittels indirektem Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gefrierschnitten von Primatenkleinhirn als Substrat möglich. Diese Antikörper sind an einer feinen Fluoreszenz des Purkinjezell-Cytoplasmas und einer punktartigen Färbung der Molekularschicht erkennbar.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Tr-Antikörper werden bei Patienten mit Kleinhirndegeneration gefunden und können den ersten Hinweis auf einen zugrundeliegenden Morbus Hodgkin geben.

Literatur

1. Bernal F, Shams'ili S, Rojas I, Sanchez-Valle R, Saiz A, Dalmau J, Honnorat J, Sillevs Smitt P, Graus F (2003) Anti-Tr antibodies as markers of paraneoplastic cerebellar degeneration and Hodgkin's disease. *Neurology* Jan 28;60(2):230-234
2. Graus F, Delattre JY, Antoine JC, Dalmau J, Giometto B, Grisold W, Honnorat J, Smitt PS, Vedeler CH, Verschuuren JJ, Vincent A, Voltz R (2004) Recommended diagnostic criteria for paraneoplastic neurological syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75(8):1135-1140

Autoantikörper gegen TSH-Rezeptoren

Synonym(e)

TSH-Rezeptor-Antikörper, TRAk

Englischer Begriff

TSH receptor autoantibodies (TRAb)

Definition

Autoantikörper gegen die Rezeptoren für das Thyreoidea-stimulierende Hormon (TSH).

Synthese/Verteilung/Abbau/Elimination

Der TSH-Rezeptor ist ein Mitglied der Unterfamilie der G-Protein-gekoppelten Glykoproteinrezeptoren. Jeder Thyreozyt weist jeweils 10^3 bis 10^4 TSH-Rezeptoren auf. Ein Rezeptor besteht aus einer extrazellulären α -Untereinheit mit einem Molekulargewicht von 53 kDa und einer transmembranen β -Untereinheit mit einem Molekulargewicht von 38 kDa. Die TSH-Rezeptoren von Schwein, Ratte und Mensch weisen eine Homologie von 85-90 % auf. Im Bereich der Bindungsstelle für das TSH beträgt die Homologie nahezu 100 %. TSH-Rezeptor-Autoantikörper binden sich an die extrazelluläre Domäne des Rezeptors.

Funktion und Pathophysiologie

TSH-Rezeptor-Autoantikörper (TRAk) sind heterogen bezüglich ihrer biologischen Wirkungsweise und stimulieren (TSAb, thyroid stimulating antibody) oder blockieren (TSBAb, thyroid blocking antibody) den TSH-Rezeptor. Bei Morbus Basedow ist die Wirkung stimulierend, d. h. die TRAk wirken als TSH-Agonisten. Infolge der Antikörperbindung kommt es zu einer Stimulation der cAMP-Kaskade, einer erhöhten Bildung und Sekretion der Schilddrüsenhormone, Überfunktion und Proliferation der Schilddrüse. Der TSH-Rezeptor besteht nicht nur aus der Bindungsstelle für das TSH (siehe oben). Autoantikörper gegen den TSH-Rezeptor können gegen unterschiedliche Molekülabschnitte gerichtet sein. Diejenigen TRAk, welche unmittelbar gegen die Bindungsstelle des TSH gerichtet sind und die Bindung von TSH an den TSH-Rezeptor inhibieren, werden TBII (TSH binding inhibitor immunoglobulin) genannt. Die heute üblichen Immunoassays zur Bestimmung der TRAk erfassen die TBII-Fraktion, positive Ergebnisse sind zu über 90 % mit einem M. Basedow assoziiert.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Bei den heute überholten Testmethoden der 1. Generation handelt es sich um Radiorezeptorassays (RRA), die auf einer Verdrängung radioaktiv markierter TSH-Moleküle von solubilisierten Thyreozytenmembranen durch die TRAk des Patientenserums basieren. Das Patientenserum und das markierte TSH werden gemeinsam in einem Schritt mit den solubilisierten Membranen (Rezeptoren) inkubiert. Das markierte TSH bindet sich an die nicht von TRAk besetzten Rezeptoren. Zur Abtrennung der nicht gebundenen Bestandteile des Reaktionsansatzes wird mit einem Fällungsreagenz sedimentiert und abzentrifugiert. Die Menge der im Sediment enthaltenen Radioaktivität ist umgekehrt proportional zur TRAk-Konzentration in der Probe.

Bei den als Testmethoden der 2. Generation verwendeten ELISA, Radiorezeptorassays (RRA) und Lumineszenzrezeptorassays (LRA) sind porcine oder humane TSH-Rezeptoren an der Wand eines Reaktionsgefäßes immobilisiert, an die sich TRAk positiver Proben binden. Überschüssige Probenbestandteile werden durch Waschen des Reaktionsgefäßes entfernt. Die gebundenen TRAk inhibieren die Bindung von markiertem TSH, welches in einem zweiten Inkubationsschritt hinzugegeben wird. Die Menge des an der Festphase durch Photometrie, Messung der Radioaktivität oder Lumineszenz nachgewiesenen markierten TSH ist umgekehrt proportional zur TRAk-Konzentration in der Probe. Die Testsysteme der 2. Generation weisen untereinander nahezu identische analytische Charakteristika auf, unabhängig von der verwendeten Rezeptorspezies (human oder porcin: Im Rezeptorbereich herrscht weitgehende Übereinstimmung). Den Methoden der 1. Generation sind sie weit überlegen, da sie eine höhere Sensitivität aufgrund ihrer vorteilhaften Testkonfiguration aufweisen, durch eventuell zusätzlich im Serum des Patienten vorliegende Antikörper gegen TSH nicht gestört werden und durch die Verwendung einer internationalen Referenzpräparation zur Kalibrierung besser standardisierbar sind. Der ELISA kann im Unterschied zu allen anderen Methoden am leichtesten automatisiert werden, ihm wird heute im Vergleich zum Radioimmunoassay meistens der Vorzug gegeben.

Internationale Einheit

Der 1. Internationaler Standard für schilddrüsenstimulierende Antikörper (WHO, 1995, Standard 90/672, National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, England) enthält laut Definition 0,1 IU pro Ampulle.

Referenzbereich — Frauen

Negativ bis grenzwertig: <2IU/l (Tests der 2. Generation)

Referenzbereich — Männer

Negativ bis grenzwertig: <2IU/l (Tests der 2. Generation)

Referenzbereich — Kinder

Negativ bis grenzwertig: <2IU/l (Tests der 2. Generation)

Indikation

Nachweis oder Ausschluss des Morbus Basedow sowie Therapiekontrolle.

Interpretation

Für die Diagnose eines M. Basedow gelten TRAk als serologische Marker, da sie bei über 90 % der unbehandelten Patienten nachweisbar sind. Darüber hinaus erlaubt die Kontrolle der TRAk-Konzentration im Krankheitsverlauf des M. Basedow eine prognostische Aussage und bietet eine wichtige Entscheidungshilfe zur Therapiesteuerung. Hohe TRAk-Konzentrationen nach einer langen Thyreostatika-Therapie sind Anzeichen für ein erhöhtes Rückfallrisiko. Selten werden TRAk bei Hashimoto-Thyreoiditis und primärem Myxödem (möglicherweise funktionsinhibierende Antikörper) gefunden. Weiterhin können TRAk im Serum schwangerer Frauen, die an M. Basedow leiden, eine Hyperthyreose beim Fötus auslösen.

Literatur

1. Orgiazzi J (2000) Anti-TSH receptor antibodies in clinical practice. *Endocrinol Metab Clin North Am* 29(2):339-355
2. Rees Smith B (2001) Thyroid autoantibodies. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 61(235):45-52
3. Saravanan P, Dayan CM (2001) Thyroid autoantibodies. *Endocrinol Metab Clin North Am* 30(2):315-337

Autoantikörper gegen U1-RNP

Synonym(e)

U1-RNP-Antikörper

Englischer Begriff

U1-RNP antibodies, autoantibodies against U1-RNP

Definition

Bei den korrespondierenden Antigenen handelt es sich um eine Gruppe kleiner Ribonukleoproteine (snRNP, small nuclear ribonucleoproteins), die aus niedermolekularer RNS mit hohem Uridingehalt (U-RNS) und verschiedenen Proteinen (Molekulargewichte 9-70 kDa) bestehen. Der RNS-Anteil wird in Abhängigkeit vom chromatographischen Verhalten als U1 bis U6 bezeichnet. Die U-n(nukleären)RNP-Partikel weisen neben der jeweiligen RNS je sechs verschiedene Core-Proteine auf (B, B', D, E, F, G). U1-nRNP enthält darüber hinaus Partikel-spezifische Proteine (70K, A, C), gegen deren Epitope sich die Antikörper richten.

Untersuchungsmaterial

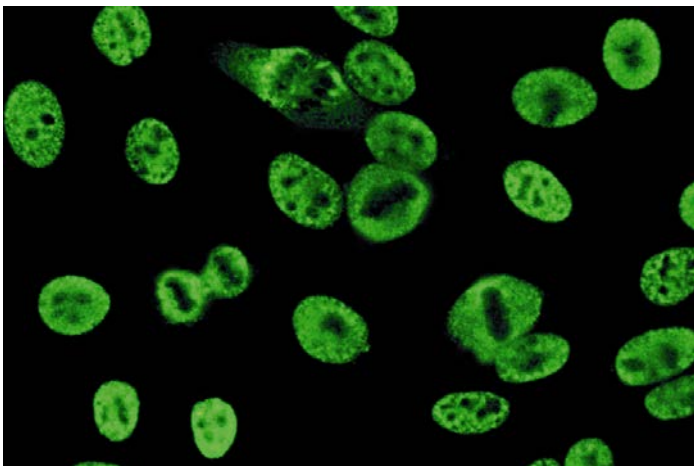
Serum, Plasma

Probenstabilität

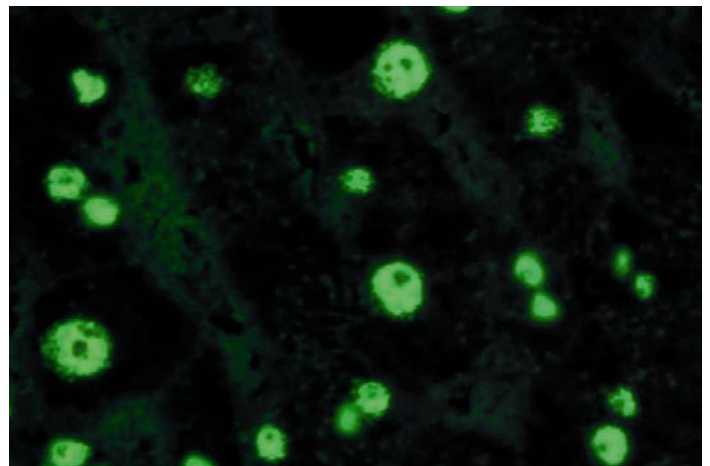
Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Antikörper gegen U1-RNP und Sm zeigen im indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) mit HEP-2-Zellen in der Regel eine grobgranuläre, manchmal auch eine mittel- bis feingranuläre Fluoreszenz, die über den gesamten Zellkern verteilt ist, aber die Nukleoli frei lässt. In Mitose-Zellen sind die kondensierten Chromosomen dunkel, die Peripherie zeigt eine fast homogene, glatte Fluoreszenz. Gewebeschnitte der Primatenleber weisen ebenfalls eine granuläre Fluoreszenz auf, die Nukleoli sind ausgespart. Antikörper gegen U1-nRNP und Sm reagieren mit der Primatenleber ebenso stark wie mit HEP-2-Zellen, im Gegensatz zu Antikörpern gegen SS-A und SS-B.



**Abb. 87 Autoantikörper gegen U1-RNP.
Substrat HEP-2-Zellen.**



**Abb. 88 Autoantikörper gegen U1-RNP.
Substrat Primatenleber.**

Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur genauen Identifizierung des Zielantigens ein monospezifischer Test (ELISA, Linienblot) mit nativ aufgereinigtem U1-RNP oder ein Westernblot mit Zellkern-Antigenen eingesetzt werden.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

U1-nRNP Antikörper sind charakteristisch für die Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom). Die Prävalenz beträgt 95-100 %. Der Antikörpertiter korreliert mit der Krankheitsaktivität. Antikörper gegen U1-nRNP treten auch bei 30-40 % der Patienten mit systemischem Lupus erythematoses auf, dann aber fast immer kombiniert mit Autoantikörpern gegen Sm.

Literatur

Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clinical Immunology and Immunopathology* 47(2):121-141

Autoantikörper gegen Vasopressin-produzierende Zellen

Synonym(e)

Anti-VPZ

Englischer Begriff

Autoantibodies to arginine vasopressin producing cells, AVPCAb

Definition

Autoantikörper gegen Vasopressin-produzierende Zellen kommen beim zentralen idiopathischen Diabetes insipidus vor. Autoimmunprozesse in Hypothalamus und Hypophyse führen dabei zu einer verminderten Synthese und Sekretion des Hormons Vasopressin (Adiuretin).

Funktion und Pathophysiologie

Das antidiuretische Hormon (ADH, Adiuretin, Vasopressin) wird in den Nuclei supraoptici und paraventriculares des Hypothalamus produziert und in Abhängigkeit von der Plasma-Osmolalität vom Hinterlappen der Hypophyse ausgeschüttet. In den Sammelrohren der Niere werden durch das Hormon Aquaporine aktiviert, die die Sammelrohre für Wasser durchlässig machen und dadurch die Konzentrationsleistung der Niere erhöhen. Ein Mangel an ADH führt zu einem Diabetes insipidus.

Autoimmunreaktionen gegen den Hypothalamus und gegen die Hypophyse tragen zur Hälfte der Fälle mit Diabetes insipidus centralis bei. Sie sind mit Autoantikörpern gegen Vasopressin-produzierende Zellen assoziiert.

Untersuchungsmaterial

Serum und Plasma

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Autoantikörper gegen Vasopressin-produzierende Zellen werden durch indirekte Immunfluoreszenz bestimmt. Als Substrate setzt man Gefrierschnitte des Hypothalamus (Primatengewebe, suprasellärer Bereich: Es ist nicht erforderlich, die Nuclei supraopticus und paraventricularis herauszupräparieren) und des Hypophysenhinterlappens ein. Die Ausgangsverdünnung des Serums liegt bei 1:10, es werden Antikörper der Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM untersucht.

Bei einem Teil der Patienten mit autoimmun bedingtem Diabetes insipidus centralis lassen sich keine Anti-VPZ nachweisen. Wegen der Assoziation der Erkrankung mit verschiedenen Formen der Autoimmun-Polyendokrinopathie ist es daher sinnvoll, die bei diesen Krankheitsbildern relevanten Autoantikörper mitzuerfassen: Für die indirekte Immunfluoreszenz werden zusätzlich Gefrierschnitte der Organe Nebenniere, Ovar, Plazenta und Testis, Schilddrüse, Primatenmagen, Pankreas und quergestreifte Muskeln eingesetzt. Solche Antikörperprofile werden am einfachsten unter Verwendung moderner „BIOCHIP-Mosaiken“ erstellt.

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Anti-VPZ werden untersucht bei Verdacht auf autoimmunogenen Diabetes insipidus centralis. Es empfiehlt sich, Anti-VPZ auch bei Patienten mit Autoimmun-Polyendokrinopathie zu bestimmen, zum Nachweis eines latenten Diabetes insipidus mit der Chance, durch eine prophylaktische Therapie mit Desmopressin einen Ausbruch der Erkrankung zu verzögern oder zu vermeiden.

Interpretation

Der Autoantikörper-Nachweis zeigt einen Autoimmun-Hintergrund des zentralen Diabetes insipidus an.

Diagnostische Wertigkeit

Die Bestimmung der VPZ-Antikörper kann dazu beitragen, einen autoimmunen zentralen von einem renalen Diabetes insipidus und von verschiedenen anderen Ursachen des zentralen Diabetes insipidus zu unterscheiden: Tumoren, Tuberkulose und Sarkoidose im Bereich der Hypophyse, vererbte Formen, Hypoxie, Ischämie, intracraniale Verletzungen und andere. Prävalenz und Titer der VPZ-Antikörper sind bei Ausbruch des autoimmun bedingten Diabetes insipidus sehr hoch, fehlen sie zu diesem Zeitpunkt, kann man eine Autoimmunpathogenese nahezu ausschließen.

Ein kleiner Teil der Patienten mit endokrinen Autoimmunerkrankungen ohne manifesten Diabetes insipidus entwickelt diese Symptomatik im Laufe weniger Jahre, hier haben die Anti-VPZ einen hohen prädiktiven Aussagewert.

Für eine Autoimmunpathogenese eines zentralen Diabetes insipidus spricht neben der Präsenz der Anti-VPZ ein Alter des Patienten von weniger als 30 Jahren, das gleichzeitige Vorliegen anderer endokriner Autoimmunerkrankungen und eine durch Nuklearmagnetresonanztomographie nachweisbare Verdickung des Hypophysenstiels – das sichtbare Zeichen der vorhandenen lymphocytären Infundibuloneurohypophysitis.

Literatur

1. Scherbaum WA, Bottazzo GF (1983) Autoantibodies to vasopressin cells in idiopathic diabetes insipidus: evidence for an autoimmune variant. *Lancet* 1(8330):897-901
2. Pivonello R, De Bellis A, Faggiano A, Di Salle F, Petretta M, Di Somma C, Perrino S, Altucci P, Bizzarro A, Belastella A, Lombardi G, Colao A (2003) Central diabetes insipidus and autoimmunity: relationship between the occurrence of antibodies to arginine vasopressin-secreting cells and clinical, immunological, and radiological features in a large cohort of patients with central diabetes insipidus of known and unknown etiology. *J Clin Endocrinol Metab* 88(4):1629-1636

Autoantikörper gegen Yo

Synonym(e)

Anti-Yo, PCA-1, Autoantikörper gegen Purkinjezell-Cytoplasma

Englischer Begriff

Anti-Yo autoantibodies

Definition

Autoantikörper gegen das Cytoplasma der Purkinjezellen bei paraneoplastischem Kleinhirnsyndrom. Bezeichnung abgeleitet von der Indexpatientin Young. Yo-Antikörper können den ersten Hinweis auf einen zugrundeliegenden Tumor geben (siehe Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene).

Untersuchungsmaterial

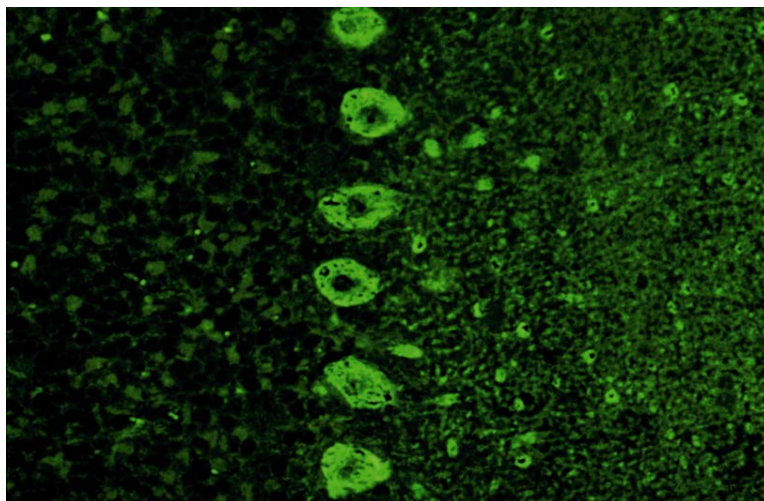
Serum, Plasma oder Liquor

Probenstabilität

Patientenproben für Antikörperbestimmungen können bei +4 °C bis zu zwei Wochen lang aufbewahrt werden, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg.

Analytik

Zum Nachweis der Autoantikörper gegen Purkinjezellen (Yo) eignet sich als Standardmethode der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit Gefrierschnitten des Primatenkleinhirns. Autoantikörper gegen Yo haben oft hohe Titer, zuweilen bis 1:100.000. Bei einem positiven Resultat im IIFT kann zur Absicherung des Befundes ein Westernblot mit Kleinhirn-Antigenen oder ein Linienblot mit aufgereinigtem definiertem Antigen eingesetzt werden.



**Abb. 89 Autoantikörper gegen Yo.
Substrat Primatenkleinhirn.**

Referenzbereich

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Die seltenen Autoantikörper gegen Yo weisen auf ein symptomatisches (paraneoplastisches) Kleinhirnsyndrom hin. In der Regel sind die Antikörper mit bestimmten Tumoren assoziiert, am häufigsten mit Ovar-, Mamma- und Uteruskarzinom, sie wurden aber auch bei Prostatakarzinom oder Adenokarzinom des Ösophagus beobachtet. In vielen Fällen geht das Kleinhirnsyndrom klinisch dem Tumor voraus, die nachgewiesenen Antikörper gegen Yo geben dann Veranlassung zur Tumorsuche (siehe: Autoantikörper gegen onkoneuronale Antigene).

Literatur

Voltz R (2002) Paraneoplastische neurologische Autoimmunerkrankungen. Nervenarzt 73:909-929

Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA)

Synonym(e)

Autoantikörper gegen Zellkerne, ANA, ANF (antinukleäre Faktoren)

Englischer Begriff

Antinuclear autoantibodies

Definition

Autoantikörper, die sich gegen Antigene des Zellkerns richten. Bei der Bezeichnung dieser Autoantigene hat man sich entweder nach biochemischen Merkmalen gerichtet (DNS, Histone, Ribonukleoproteine: RNP), oder nach mit den Autoantikörpern assoziierten Krankheiten (SS-A, SS-B: Sjögren-Syndrom, Antigene A und B; PM-Scl: Polymyositis, Progressive Systemsklerose), manchmal aber auch nach dem Namen der Patienten, bei denen die Antikörper zuerst beschrieben wurden (Sm, Ro, La).

Autoantigene des Zellkerns:

Polynukleotide	Doppelstrang-DNS, Einzelstrang-DNS, RNS
Histone	H1, H2A, H2B, H3, H4, H2A-H2B-Komplex
Ribonukleoproteine	U1-nRNP, Sm, SS-A (Ro), SS-B (La)
Antigene des Nukleolus	U3-nRNP/Fibrillarin, RNS-Polymerase I, PM-Scl (PM-1), 7-2-RNP (To), 4-6-S-RNS, NOR-90 (Nukleolus-Organisator)
Zentromere	Kinetochor-Proteine
Weitere Proteine	Scl-70, PCNA (Cyclin I), Kerngranula, Ku, Mi-2, Lamine, Lamin-B-Rezeptoren,

Pathophysiologie

Die Bedeutung der Zellkern-Antikörper ist zwar für die Diagnostik vieler Autoimmunkrankheiten gut belegt, ihre Rolle in der Pathogenese ist aber, abgesehen zum Beispiel von den Autoantikörpern gegen Doppelstrang-DNS, in den meisten Fällen noch unklar.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Liquor

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Goldstandard für die Bestimmung der ANA ist der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit humanen Epithelzellen (HEp-2) und Primatenleber, der für seine hohe Spezifität bekannt ist – positive und negative Proben ergeben einen großen Signalunterschied, weil man bei der mikroskopischen Auswertung genau feststellen kann, wie sich ein Indikator-Farbstoff (in der Regel Fluorescein) in einem Gewebe oder in Zellen verteilt. Für jeden gebundenen Autoantikörper ergibt sich ein typisches Fluoreszenzmuster, je nach Lokalisation der einzelnen Autoantigene.

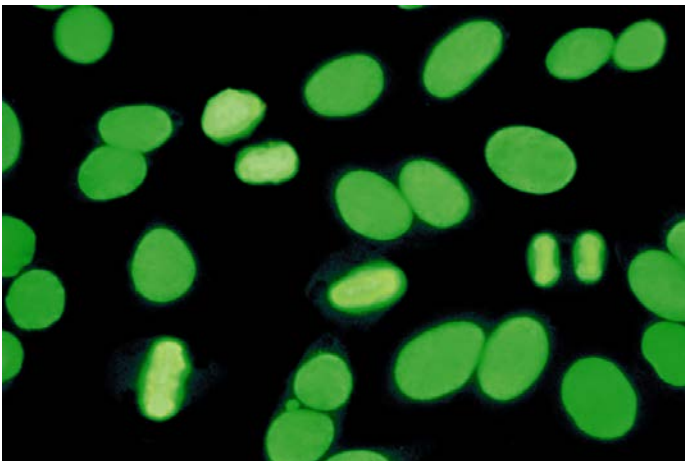


Abb. 90 Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA; Muster homogen).
Substrat HEp-2-Zellen.

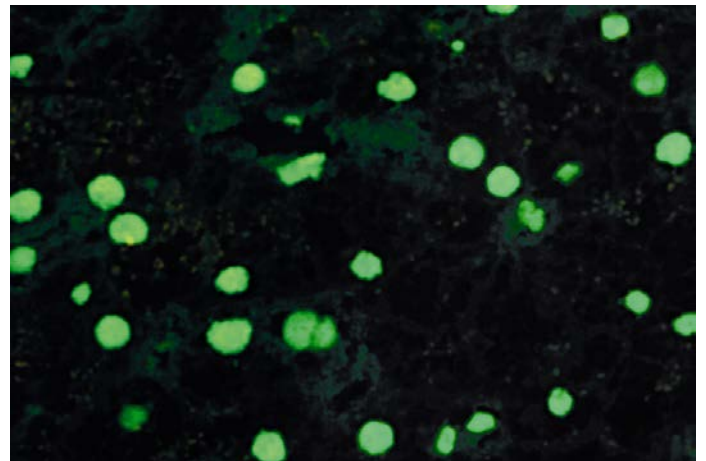


Abb. 91 Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA; Muster homogen).
Substrat Primatenleber.

Bei einem positiven Resultat setzt man zur endgültigen Differenzierung Testsubstrate mit definierten Einzelantigenen (ELISA, Westernblot, Linienblot) ein. Die alleinige Verwendung dieser monospezifischen Testmethoden reicht für die Bestimmung der Autoantikörper gegen Zellkerne nicht aus, da bisher nicht alle relevanten Antigene in auf-

gereinigter Form verfügbar sind. Auch zur Kontrolle ihrer Plausibilität ist immer ein IIFT parallel zu monospezifischen Tests durchzuführen.

Referenzbereich

Negativ

Bewertung

ANA im Serum von Patienten sind ein charakteristischer Befund bei vielen Erkrankungen, vor allem (aber nicht ausschließlich) des rheumatischen Formenkreises. Im Vordergrund stehen:

Autoimmunerkrankung	Prävalenz ANA in %
Systemischer Lupus erythematoses (SLE) aktiv	95-100
inaktiv	60-80
Medikamenten-induzierter Lupus erythematoses	100
Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)	100
Rheumatoide Arthritis	20-40
Sonstige rheumatische Erkrankungen	20-50
Progressive Systemsklerose	85-95
Polymyositis / Dermatomyositis	30-50
Sjögren-Syndrom	70-80
Chronisch-aktive Hepatitis	30-40
Colitis ulcerosa	26

Der Nachweis von ANA stellt für viele Autoimmunerkrankungen ein wesentliches Diagnostikum dar. Antikörper gegen nukleäre Antigene sind gegen verschiedene Zellkernbestandteile (biochemische Substanzen des Zellkerns) gerichtet. Diese umfassen die Nukleinsäuren, Zellkernproteine und Ribonukleoproteine. Sie sind ein charakteristischer Befund bei verschiedenen Erkrankungen, vor allem solchen des rheumatischen Formenkreises. Die Häufigkeit (Prävalenz) antinukleärer Antikörper bei entzündlichen rheumatischen Erkrankungen liegt zwischen 20 % und 100 %, am niedrigsten bei der rheumatoiden Arthritis, und zwar zwischen 20 % und 40 %. Folglich ist die differenzierte Antikörperdiagnostik gegen nukleäre Antigene zur Identifizierung der einzelnen rheumatischen Erkrankungen und zur Abgrenzung gegenüber anderen Autoimmunerkrankungen unabdingbar:

Systemischer Lupus erythematoses

Beim Systemischen Lupus erythematoses (SLE), auch Lupus erythematoses disseminatus (LED) genannt, gilt der Nachweis der Autoantikörper gegen Doppelstrang-DNS als wichtigstes Kriterium für die Diagnose. Immunkomplexe aus Doppelstrang-DNS und entsprechenden Autoantikörpern verursachen Gewebeschäden in Subcutis, Nieren und anderen Organen. Der Antikörpertiter korreliert mit der Krankheitsaktivität. Ebenso gelten Antikörper gegen Sm als pathognomonisch für den SLE. Daneben sind bei dieser Krankheit Antikörper gegen weitere Polynukleotide, Ribonukleotide, Histone und andere Antigene des Zellkerns nachweisbar.

Beim Medikamenten-induzierten Lupus erythematoses mit den Symptomen Arthralgien, Arthritis, Exanthem, Serositis, Myalgien, Leber- und Milzvergrößerung treten konstant Autoantikörper gegen Histone auf. Diese reversible Form des SLE kann ausgelöst werden durch Antibiotika (z. B. Penicillin, Streptomycin, Tetracycline), Chemotherapeutika (z. B. INH, Sulfonamide), Antiepileptica (z. B. Phenytoin, Hydantoine), Antiarrhythmica (z. B. Procainamid, Practolol), Antihypertensiva (z. B. Reserpin, Hydralazin), Psychopharmaka (z. B. Chlorpromacin), Thyreostatika (z. B. Thiouracilderivate), antirheumatische Basistherapeutica (z. B. Gold, D-Penicillamin) und andere wie z. B. Kontrazeptiva und Allopurinol.

Autoantikörper bei systemischem Lupus erythematoses	
Antigen	Prävalenz in %
Doppelstrang-DNS	60-90
Einzelstrang-DNS	70-95
Nukleosomen	50-95
RNS	50
RNS-Helikase A	6
Histone	50-80
U1-nRNP	15-40
Sm	5-40

SS-A (Ro)	20-60
SS-B (La)	10-20
Cyclin (PCNA)	3
Ku	10
Ribosomale P-Proteine	10
(Hsp-90: Hitzeschock-Protein, 90 kDa)	50
(Cardiolipin)	40-60

Sharp-Syndrom

Beim Sharp-Syndrom (Mixed connective tissue disease = MCTD, Mischkollagenose) sind hohe Autoantikörpertiter gegen U1-nRNP charakteristisch. Der Antikörpertiter korreliert mit der Krankheitsaktivität.

Autoantikörper beim Sharp-Syndrom	
Antigen	Prävalenz in %
U1-nRNP	95-100
Einzelstrang-DNS	20-50

Rheumatoide Arthritis

Bei rheumatoider Arthritis werden bei bis zur Hälfte der Patientenseren Antikörper gegen Histone festgestellt, seltener finden sich Titer gegen U1-nRNP. Antikörper gegen RANA ("Rheumatoid Arthritis Nuclear Antigen") sind mit HEP-2-Zellen nicht nachweisbar.

Zellkern-Antikörper bei rheumatoider Arthritis	
Antigen	Prävalenz in %
Histone	15-50
Einzelstrang-DNS	8
U1-nRNP	3
(RANA)	90-95

Progressive Systemisklerose

Die Progressive Systemisklerose (Progressive Systemische Sklerodermie = PSS, Sklerodermie) kann sich in zwei nicht immer eindeutig gegeneinander abgrenzbaren Formen manifestieren. Bisher wurden nur bei der diffusen Form Antikörper gegen Fibrillarin, RNS-Polymerase I und Scl-70 beobachtet. Autoantikörper gegen Zentromere sind mit der limitierten Form der Progressiven Systemisklerose assoziiert.

Autoantikörper bei Progressiver Systemisklerose (diffuse Form)	
Antigen	Prävalenz in %
Fibrillarin	5-10
PM-Scl (PM-1) (75-kDa/100-kDa-Hauptantigen)	13 (10/7)
Scl-70	25-75
RNS-Polymerase I	4
7-2-RNP (To)	selten
NOR-90 (Nukleolus-Organisatorregion)	selten

Autoantikörper bei Progressiver Systemisklerose (limitierte Form)	
Antigen	Prävalenz in %
Zentromere	80-95

Polymyositis/ Dermatomyositis

Autoantikörper gegen PM-Scl treten bei Polymyositis und Dermatomyositis auf. Auch andere Zellkern-Antikörper (Mi-1, Mi-2 und Ku) und Antikörper gegen Jo-1 können bei diesen Erkrankungen nachgewiesen werden.

Autoantikörper bei Polymyositis und Dermatomyositis	
Antigen	Prävalenz in %
PM-Scl (PM-1), einschließlich Overlap-Syndrom mit Progress. Systemsklerose	50-70
Jo-1 (Histidyl-tRNS-Synthetase)	25-35
Mi-1	10
Mi-2	5
Ku	50
Einzelstrang-DNS	40-50
PL-7 (Threonyl-tRNS-Synthetase)	4
PL-12 (Alanyl-tRNS-Synthetase)	3

Sjögren-Syndrom

Beim Sjögren-Syndrom (primären Sjögren-Syndrom) treten Antikörper gegen SS-A und SS-B auf, vorwiegend miteinander kombiniert. Zusätzlich können Autoantikörper gegen Speicheldrüsen-Ausführungsgänge bei 40-60 % der Fälle vorliegen.

Autoantikörper bei primärem Sjögren-Syndrom	
Antigen	Prävalenz in %
SS-A (Ro)	40- 95
SS-B (La)	40-95
Einzelstrang-DNS	13
(RANA	70)
(Speicheldrüsen-Ausführungsgänge	40-60)
(Rheumafaktoren	60-80)

Primär-biliäre Lebercirrhose

Neben Antikörpern gegen Mitochondrien sind mit der Primär-biliären Lebercirrhose eine Reihe von Autoantikörpern gegen Zellkerne assoziiert, die teilweise als pathognomonisch anzusehen sind. Siehe auch PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper (PBCNA). Darüber hinaus findet man bei PBC auch häufig Antikörper gegen SS-A und gegen Zentromere, die beide, wie auch die Antikörper gegen GP210, auf eine ungünstigere Prognose hinweisen.

Autoantikörper gegen Zellkerne bei Primär-biliärer Lebercirrhose	
Antigen	Prävalenz in %
Nuclear Dots	25-40
Kernmembran (GP210)	20-40
SS-A	20
Zentromere	20-30

Auch bei subjektiv gesund erscheinenden Personen können Antikörper gegen Zellkerne nachgewiesen werden, mit einer Prävalenz von 5 % und meistens niedrigen Titern (verschiedene Immunglobulinklassen, vorwiegend aber IgM).

Autoantikörper gegen Zellkerne Die wichtigsten assoziierten Krankheiten		
Antigen	Krankheit	Prävalenz in %
Doppelstrang-DNS	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	60-90
Einzelstrang-DNS	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	70-95
	Medikamenten-induzierter Lupus erythematodes	60
	Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom)	20-50
	Polymyositis/Dermatomyositis	40-50
	Sklerodermie, Sjögren-Syndrom, rheumatoide Arthritis	8-14
RNS	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	50
	Sklerodermie, Sjögren-Syndrom	65

Histone	Medikamenten-induzierter Lupus erythematodes Systemischer Lupus erythematodes (SLE) Rheumatoide Arthritis	95 50-80 15-50
U1-nRNP	Mischkollagenose (MCTD, Sharp-Syndrom) Systemischer Lupus erythematodes (SLE) Rheumatoide Arthritis	95-100 15-40 3
Sm	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	5-40
SS-A (Ro)	Sjögren-Syndrom Systemischer Lupus erythematodes (SLE) Neonatales Lupus-Syndrom	40-95 20-60 100
SS-B (La)	Sjögren-Syndrom Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	40-95 10-20
Fibrillarin	Progressive Systemsklerose, diffuse Form	5-10
RNS-Polymerase I	Progressive Systemsklerose, diffuse Form	4
RNS-Helikase A	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	6
PM-Scl (PM-1)	Polymyositis/Dermatomyositis/Overlap-Syndrom Progressive Systemsklerose - diffuse Form	50-70 5-10
Zentromere	Progressive Systemsklerose - limitierte Form	80-95
Scl-70	Progressive Systemsklerose, diffuse Form	25-75
Cyclin (PCNA)	Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	3
Ku	Systemischer Lupus erythematodes (SLE) Poly-/Dermatomyositis, Progressive Systemsklerose	10 30-55
Mi-1, Mi-2	Dermatomyositis	5-10

Antikörper gegen Bestandteile des Cytoplasma der HEp-2-Zellen sind am Immunfluoreszenzmuster nicht immer eindeutig differenzierbar. Nur wenige Cytoplasma-reaktive Antikörper lassen sich einer bestimmten Krankheit zuordnen – unter anderem Antikörper gegen Mitochondrien bei Primär-biliärer Lebercirrhose und gegen die Proteine PL-7 und PL-12 bei Polymyositis und Dermatomyositis. Weitere seltene Antikörper bei Polymyositis sind gegen OJ, EJ und Signal-Erkennungs-Partikel gerichtet. Andere cytoplasmatische Antikörper – gegen Ribosomen, Golgi-Apparat, Lysosomen und Cytoskelettanteile wie Actin, Vimentin oder Cytokeratine – sind von untergeordneter klinischer Bedeutung. Auch der diagnostische Nutzen Mitose-assoziiierter Antigene ist noch nicht endgültig geklärt. Die Zusammenschau der aufgeführten Argumente belegt die herausragende immunologische Relevanz und den damit verbundenen diagnostischen Wert der Autoantikörper gegen Zellkerne.

Literatur

1. Tan EM, Chan EKL, Sullivan KF, Rubin RL (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): Diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. Clin Immunol Immunopathol 47(2):121-141
2. Fritzler MJ (1993) Autoantibodies in scleroderma. Review. J Dermatol. May;20(5):257-68
3. Schlumberger W, Olbrich S, Müller-Kunert E, Stöcker W (1994) Autoantikörper-Diagnostik mit der Substratkombination: Humane Epithelzellen (HEp-2) und Primatenleber. Differenzierung der Antikörper durch Enzymimmuntests. Eigenverlag der EUROIMMUN AG, Lübeck, Deutschland
4. Genth E, Mierau R (1995) Diagnostische Bedeutung Sklerodermie- und Myositis-assoziiierter Autoantikörper. Z Rheumatol 54:39-49
5. Schlumberger W, Meyer W, Proost S, Dähnrich C, Müller-Kunert E, Sonnenberg K, Olbrich S, Stöcker W (1995) The new EUROBLot technology: Differentiation of Autoantibodies against cell nuclei. Eur J Clin Chem Clin Biochem 33(4):A68-A69
6. Suer W, Dähnrich C, Schlumberger W, Stöcker W (2004) Autoantibodies in SLE but not in scleroderma react with protein-stripped nucleosomes. J Autoimmun 22:325-334
7. Yamasaki Y, Narain S, Yoshida H, Hernandez L, Barker T, Hahn PC, Sobel ES, Segal MS, Richards HB, Chan EK, Reeves WH, Satoh M (2007) Autoantibodies to RNA helicase A: A new serologic marker of early lupus. Arthritis Rheum. Feb;56(2):596-604

Autoantikörper gegen Zentriolen/Zentrosomen

Englischer Begriff

Autoantibodies against centrioles/centrosomes

Definition

Siehe auch Autoantikörper gegen Mitose-assoziierte Antigene

Funktion und Pathophysiologie

Zentriolen (Zentrosomen) sind Zellorganellen, die eine wesentliche Rolle bei der Zellteilung spielen. Vor der Mitose sind sie doppelt vorhanden und positionieren sich an entgegengesetzten Polen der Zelle. Von ihnen ausgehend wachsen Spindelfasern in alle Richtungen. Zur Teilungsebene hin setzt ein Teil der Spindelfasern an den Zentromeren der Chromosomen an und stellt das Wachstum ein, die übrigen Spindelfasern wachsen über die Teilungsebene hinaus zur Gegenseite, wo sie den in Gegenrichtung wachsenden Spindelfasern begegnen und sich gegenseitig abstoßen. Dadurch werden die Kompartimente voneinander getrennt, die Bestandteile der Zelle werden gleichmäßig auf beide Tochterzellen aufgeteilt, einschließlich der Chromosomen. Während der Interphase verdoppeln sich die Zentriolen wieder.

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Probenstabilität

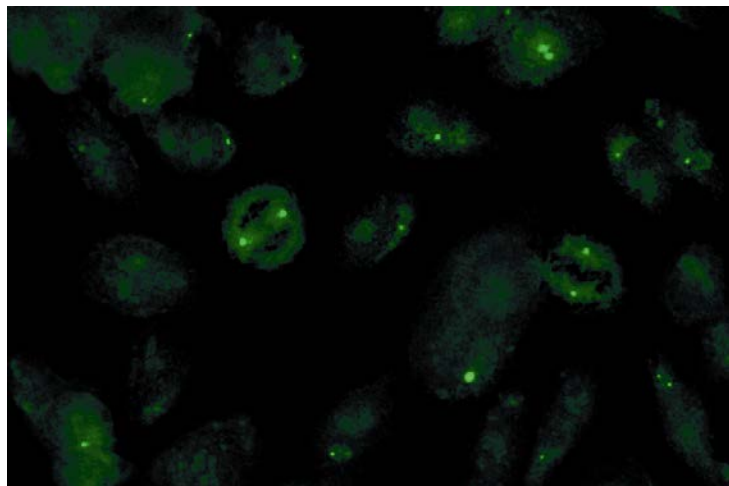
Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Für die Bestimmung der Autoantikörper gegen Zentriolen eignet sich der indirekte Immunfluoreszenztest (IIFT) mit humanen Epithelzellen (HEp-2).

Die Ausgangsverdünnung ist 1:100, es werden die Immunglobulinklassen IgA, IgG und IgM mit einem trivalenten Serum untersucht.

Bei einem typischen positiven Befund sieht man die Zentriolen im Cytoplasma der Zellen, und zwar entweder ein oder zwei Zentriolen je Zelle. Bei den mitotischen Zellen sind die Zentriolen an zwei sich gegenüberliegenden Polen positioniert.



**Abb. 92 Autoantikörper gegen Zentriolen/Zentrosomen.
Substrat HEp-2-Zellen.**

Mit verschiedenen isolierten oder rekombinant hergestellten Zentriolen-Proteinen können ELISA oder Blottechniken etabliert werden, von denen über eine höhere Sensitivität berichtet wird, als sie durch indirekte Immunfluoreszenz an HEp-2-Zellen erreicht wird.

Indikation

Die Untersuchung wird normalerweise nicht gezielt angefordert, die Antikörper werden oft nur durch Zufall entdeckt.

Interpretation

Hohe Titer deuten auf eine Progressive Systemsklerose oder auf ein Raynaud-Syndrom. Es sind nur Titer über 1:1.000 als möglicherweise Krankheits-relevant einzustufen, da auch 5 % gesunder Blutspender bis zu einer Verdünnung von 1:320 positiv reagieren. Niedrige Titer eingerechnet, soll die Prävalenz der Antikörper gegen Zentriolen bei Progressiver Systemsklerose 43 % betragen.

Diagnostische Wertigkeit

Die Antikörper besitzen eine hohe Sensitivität für die Progressive Systemsklerose, aber nur eine niedrige Spezifität.

Literatur

Gavanescu I, Vazquez-Abad D, McCauley J, Senecal JL, Doxsey S (1999) Centrosome proteins: a major class of autoantigens in scleroderma. *J Clin Immunol* 19:166-171

Autoantikörper gegen Zentromere

Synonym(e)

Zentromer-Antikörper, ACA (cave: wird auch zur Abkürzung des Terminus Anti-Cardiolipin-Antikörper verwendet), CENP-Antikörper

Englischer Begriff

Centromere antibodies

Definition

Zielantigene der Antikörper gegen Zentromere sind die vier verschiedenen Proteine des Kinetochors Zentromer-Protein-A (17 kDa), -B (80 kDa), -C (140 kDa) und -D (50 kDa) (CENP-A, -B, -C, -D). Hauptantigen ist das Zentromer-Protein-B, das von allen Seren mit Zentromer-Antikörpern erfasst wird.

Funktion und Pathophysiologie

Unmittelbar vor einer Zellteilung besteht jedes Chromosom aus zwei genetisch identischen Hälften, den Chromatiden, die in der Region des Zentromers miteinander verbunden sind. Jedes Zentromer enthält ein Kinetochor, an dem im Lauf der Mitose Spindelfasern ansetzen und die Chromatiden zum jeweiligen Zentriol hinziehen. Die Zentromere sind bei Progressiver Systemsklerose Ziel von Autoimmunreaktionen.

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Antikörper gegen Zentromere können schon vor Beginn der Progressiven Sklerodermie nachgewiesen werden. In der indirekten Immunfluoreszenz (IIFT) zeigt sich auf HEP-2-Zellen ein sehr spezifisches Fluoreszenzmuster, welches durch feine, gleich große Granula (in der Regel 46 oder 92 Zentromere je Zellkern) charakterisiert ist. Die Granula der Interphase-Zellen sind gleichmäßig über den Zellkern verteilt, bei mitotischen Zellen sind sie je nach Stadium bandförmig in der Medianebene (Metaphase) oder in zwei parallelen, sich den Zentriolen nähernden Bändern (Anaphase) angeordnet. Auf Gewebeschnitten der Primatenleber stellen sich 10 bis 20 über den Zellkern verteilte Granula dar, die im Vergleich zum Bild bei HEP-2-Zellen wesentlich schwächer fluoreszieren und leicht übersehen werden können. Mitotische Zellen sind auf der Leber nur selten zu identifizieren. Einstiegsverdünnung ist 1:100.

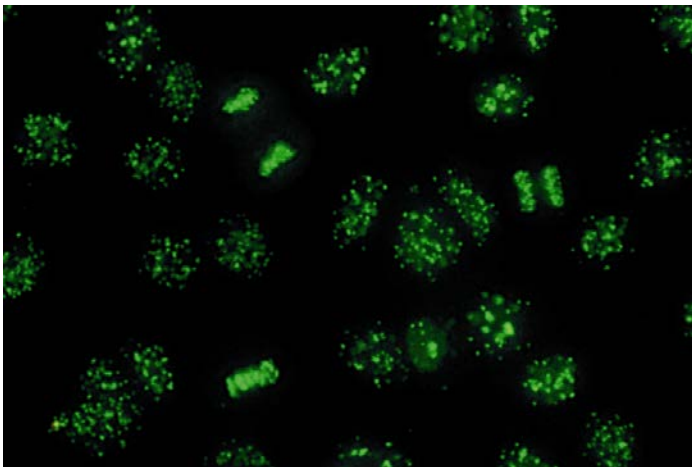


Abb. 93 Autoantikörper gegen Zentromere.
Substrat HEP-2-Zellen.

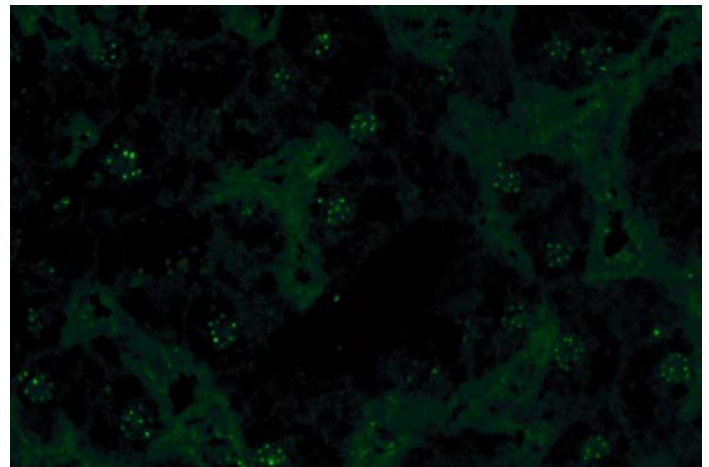


Abb. 94 Autoantikörper gegen Zentromere.
Substrat Primatenleber.

Bei verschiedenen sich überlagernden Fluoreszenzmustern sowie zur Bestätigung empfiehlt sich der Nachweis der Antikörper gegen Zentromere mit einem monospezifischen Testsystem (ELISA, Immunblot).

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Diagnostische Wertigkeit

Mit hoher Spezifität und einer Prävalenz von 80-95 % sind Antikörper gegen Zentromere pathognomonisch für die limitierte Form der Progressiven Systemsklerose. Bei der limitierten Form sind die Akren bevorzugt, und die inneren Organe sind nur wenig betroffen. Hierzu gehört die bisher als CREST-Syndrom beschriebene Variante: Calcinosis cutis, Raynaud-Symptomatik, Ösophagus-Starre, Sklerodaktylie, Teleangiektasien.

Literatur

1. Moroi Y, Peebles C, Fritzler MJ, Steigerwald J, Tan EM (1980) Autoantibody to centromere (kinetochore) in scleroderma sera. *Proc Natl Acad Sci* 77(3):1627-1631
2. Meurer M, Scharf A, Luderschmidt C, Braun-Falco O (1985) Zentromerantikörper und Antikörper gegen Scl-70-Nucleoprotein bei progressiver systemischer Sklerodermie: Diagnostische und prognostische Bedeutung. *Dtsch Med Wschr* 110(1):8-14
3. Hanke K, Uibel S, Brückner C, Dährich C, Egerer K, Hiepe F, Schlumberger W, Riemekasten G (2007) Antibodies to CENP-B antigen identify a subgroup of systemic sclerosis patients presenting more frequently sicca syndrome and less frequently lung fibrosis, cardiac and vascular involvement – analysis of the Charité SSc cohort. In: Conrad K et al. (Hrsg.). *From Etiopathogenesis to the Prediction of Autoimmune Diseases: Relevance of Autoantibodies*. Pabst Science Publishers 5:477-478

Autoantikörper gegen Zinktransporter ZnT8

Synonym(e)

Autoantikörper gegen ZnT8

Englischer Begriff

Zinc transporter isoform 8 (ZnT8) autoantibodies

Definition

Der Pankreas-spezifische Zinktransporter ZnT8 wird hauptsächlich in den β -Zellen der Langerhans-Inseln exprimiert, wo er den Transport von cytoplasmatischem Zink in intrazelluläre Vesikel vermittelt, welches dort für die Reifung und Speicherung des Insulins benötigt wird.

Der Nachweis der Autoantikörper gegen den Zinktransporter ZnT8 dient der Diagnostik des Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (IDDM).

Funktion und Pathophysiologie

Im Zuge der Autoimmunreaktion kommt es bei IDDM sehr früh zur Bildung von Autoantikörpern gegen verschiedene Inselzell-Antigene, deren Bestimmung für die Diagnose des Typ-1-Diabetes und dessen Prädiktion bei Verwandten ersten Grades von Diabetikern eine große Bedeutung erlangt hat: Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD), Tyrosin-Phosphatase (insulinoma associated antigen IA2), weitere cytoplasmatische Inselzellbestandteile und Insulin. Einer oder mehrere dieser Autoantikörper gegen GAD (GADA), IA2 (IA2A), cytoplasmatische Inselzellantigene (ICA) und Insulin (IAA) sind bei fast allen Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose des Typ-1-Diabetes nachweisbar.

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die Mehrzahl der frisch diagnostizierten Typ-1-Diabetiker auch Autoantikörper gegen den Zinktransporter ZnT8 (ZnT8A) aufweisen, welche als nützlicher und unabhängiger Marker einer Autoimmunreaktion charakterisiert wurden. Diese Antikörper erweitern das Spektrum der Autoimmundiagnostik beim Typ-1-Diabetes, da sie bei vielen Typ-1-Diabetikern zusätzlich zu den bisher untersuchten Autoantikörpern oder auch vereinzelt nachgewiesen werden können. Ein initiales Epitop-Mapping der bei Diabetikern auftretenden Autoantikörper gegen ZnT8 ergab, dass 70 % dieser Antikörper gegen den C-Terminus und 10 % gegen das N-terminale Ende des ZnT8-Proteins gerichtet sind. Es wurden innerhalb des C-Terminus drei Klassen von Konformationsepitopen nachgewiesen, welche auf den Austausch einer einzelnen Aminosäure (Arg325, Trp325, Gln325) zurückzuführen sind. Die Prävalenz der ZnT8-Antikörper korreliert mit dem Alter bei Manifestation des Typ-1-Diabetes.

Analytik

Autoantikörper gegen ZnT8 lassen sich bisher nur durch Herstellung von ^{35}S -markiertem ZnT8 mittels **In-vitro-Transkription/In-vitro-Translation** im Reticulocyt-Lysat und nachfolgender Immunpräzipitation bestimmen. Es existieren gegenwärtig keine kommerziellen Testsysteme zum Nachweis dieser Antikörper.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen ZnT8 werden bei 60-80 % der neu diagnostizierten Typ-1-Diabetiker und in 26 % der Seren von bisher als „Autoantikörper (GADA, IA2A, IAA, ICA)-negativ“ klassifizierten Typ-1-Diabetikern gefunden. Die Bestimmung der Antikörper gegen ZnT8 erbringt eine Verbesserung der Vorhersagbarkeit des Typ-1-Diabetes: Bei der kombinierten Bestimmung der Autoantikörper gegen GAD, IA2, Insulin und ZnT8 waren zum Zeitpunkt der Manifestation des Typ-1-Diabetes in 98 % der Fälle ein oder mehrere dieser Autoantikörper positiv.

Meistens sind die Antikörper schon vor der Manifestation der Erkrankung positiv und gelten als Marker der sogenannten prädiabetischen Phase. Um ein mögliches Diabetesrisiko im individuellen Fall gut abschätzen zu können, sollte eine Kombination aller Diabetes-mellitus-relevanten Autoantikörper (GADA, IA2A, IAA, ICA, ZnT8) getestet werden. Ist einer der Parameter positiv, kann man versuchen, den Ausbruch eines Diabetes mellitus durch geeignete Maßnahmen zu verhindern: Immunsuppression oder Diabetiker-Diät (unbeschäftigte Pankreas-Inseln exponieren weniger Autoantigene) über mehrere Jahre.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen Pankreas-Inseln

Literatur

1. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton C (2007) The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(43):17040-17045
2. Wenzlau JM, Hutton JC, Davidson HW (2008) New antigenic targets in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 15(4):315-320
3. Wenzlau JM, Liu Y, Yu L, Moua O, Fowler KT, Rangasamy S, Walters J, Eisenbarth GS, Davidson HW, Hutton JC (2008) A common non-synonymous single nucleotide polymorphism in the SLC30A8 gene determines ZnT8 autoantibody specificity in type 1 diabetes. *Diabetes* 57(10):2693-2697

Autoimmune-Lebererkrankungen-assoziierte Autoantikörper

Englischer Begriff

Autoimmune liver diseases

Definition

Zu den Autoimmunerkrankungen der Leber zählen die Autoimmunhepatitis (AIH), die Primär-biliäre Lebercirrhose (PBC) und die Primär-sklerosierende Cholangiitis (PSC).

Funktion und Pathophysiologie

In Westeuropa liegt die Inzidenz der **Autoimmunhepatitis (frühere Bezeichnungen: lupoide Hepatitis, chronisch-aktive Hepatitis)** bei 1,9 Fällen pro 100.000 Einwohner im Jahr. Unbehandelt geht die Autoimmunhepatitis bald in eine Lebercirrhose über. Bei rechtzeitig einsetzender und konsequent bis zum Lebensende durchgeführter niedrig dosierter immunsuppressiver Therapie haben die Patienten aber eine normale Lebenserwartung. Darin liegen die Chancen einer guten serologischen Diagnostik und der besondere Wert der Bestimmung der assoziierten Autoantikörper. Differentialdiagnostisch muss eine Infektion mit Hepatitisviren durch Untersuchung der entsprechenden serologischen Parameter ausgeschlossen werden.

Einige Autoren klassifizieren die Autoimmunhepatitis entsprechend ihrem Autoantikörper-Status: Subtyp I (ANA, SMA), Subtyp II (Antikörper gegen LKM) und Subtyp III (Antikörper gegen SLA/LP). Diese Einteilung ist wahrscheinlich weder klinisch, noch therapeutisch und prognostisch von Bedeutung.

Autoantikörper gegen SLA besitzen von allen Antikörpern die für die Autoimmunhepatitis höchste diagnostische Treffsicherheit. Anti-SLA/LP treten bei AIH allein oder zusammen mit weiteren Autoantikörpern auf. Ihre Prävalenz liegt allerdings nur zwischen 10 % und 30 %, der prädiktive Wert aber bei nahezu 100 %: Im Wesentlichen bietet jeder positive Befund den Beweis für eine Autoimmunhepatitis (sofern die entsprechenden klinischen Symptome vorliegen). Die serologische Bestimmung der Autoantikörper gegen SLA/LP ermöglicht daher bei vielen Patienten mit AIH eine präzise Abgrenzung zur Virushepatitis. Die Autoimmun-Serologie der Hepatitis wird damit um einen Parameter bereichert, dessen Bedeutung höher einzuschätzen ist als die der übrigen Antikörper. Ein positives Anti-SLA-Ergebnis hat für die hepatologische Klinik maßgebliche Konsequenzen: Die Fehlbehandlung einer AIH mit Interferon hätte ebenso fatale Folgen wie eine immunsuppressive Therapie der Virusinfektion.

Mit der AIH sind neben Antikörpern gegen SLA des Weiteren assoziiert: Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA), nDNS, glatte Muskeln (englische Bezeichnung: SMA, mit dem wichtigsten Zielantigen F-Actin), Leber-Niere-Mikrosomen (LKM, Zielantigen: Cytochrom P450 IID6), cytosolisches Leber-Antigen Typ 1 (LC-1, Zielantigen Formiminotransferase-Cyclodeaminase) und Granulocyten (pANCA).

Autoantikörper gegen Zellkerne (ANA) und gegen glatte Muskeln (SMA) sind bei AIH häufig, sie kommen aber auch bei 10-20 % der Patienten mit chronisch viraler Hepatitis und bei anderen Krankheiten vor. Autoantikörper gegen LKM können nur bei etwa 1 % erwachsener AIH-Patienten nachgewiesen werden, bei Kindern sind sie häufiger. Antikörper gegen LKM findet man aber auch bei 1-2 % der Patienten mit chronischer Hepatitis-C-Serologie.

Der Nachweis der Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA) ist bei der Diagnose der **Primär-biliären Lebercirrhose (PBC)** von großer Bedeutung. PBC ist eine immunmedierte, chronisch-entzündliche, cholestatische Lebererkrankung unbekannter Ursache. Sie tritt vorwiegend bei Frauen (>90 %) im Alter zwischen 40 und 60 Jahren auf. Schätzungsweise beträgt die Inzidenz von PBC weltweit 4-31 Fälle/Million im Jahr. PBC ist gekennzeichnet durch eine Infiltration der intrahepatischen Gallengänge (Canaliculi biliferi) durch Lymphzellen und eine Anstauung von Gallenflüssigkeit (Cholestase). Wenngleich PBC bislang nicht heilbar ist, können einige Symptome durch Behandlung mit Ursodeoxycholsäure und Cholestyramin (zur Bindung der Gallenflüssigkeit) so gelindert werden, dass die meisten Patienten ein normales Leben mit durchschnittlicher Lebenserwartung führen können. Ursodeoxycholsäure ist eine preiswerte Substanz mit minimalen Nebenwirkungen, die die Cholestase mildert und die Leberfunktion verbessert. Cholestyramin absorbiert die Gallensäure im Darm und vermindert somit den von der Gallensäure im Blutkreislauf verursachten Juckreiz.

Zur Diagnostik einer PBC gehört die Bestimmung der Autoantikörper gegen Mitochondrien und gegen Zellkerne, sowie die Abgrenzung von anderen chronisch-entzündlichen Lebererkrankungen wie chronische Virushepatitis, Autoimmunhepatitis oder Primär-sklerosierende Cholangiitis.

Neben AMA können mittels indirekter Immunfluoreszenz bei einem Drittel der PBC-Patienten auch PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper (PBCNA) nachgewiesen werden. Spezifische ANA-Zielantigene bei PBC

sind Sp100 und promyelocytisch leukämische Proteine (PML-Proteine), die in der indirekten Immunfluoreszenz ein Nuclear-Dot-Muster ergeben, sowie zwei Komponenten des Kernporenkomplexes (GP210 und p62), die speziell mit einem Kernmembran-Muster assoziiert werden (siehe: PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper).

Etwa 10-20 % der Patienten mit PBC entwickeln eine sekundäre Autoimmunhepatitis (**Overlap-Syndrom**). In diesen Fällen sind auch häufig Autoantikörper wie bei der AIH nachweisbar. Antikörper gegen SLA/LP weisen hier auf die Indikation zu einer immunsuppressiven Therapie.

Die Inzidenz der **Primär-sklerosierenden Cholangiitis (PSC)** wird mit 4 Erkrankungsfällen pro 100.000 Einwohner und Jahr angegeben. Vorwiegend sind Männer betroffen, und bei der Hälfte der Patienten liegt gleichzeitig eine Colitis ulcerosa vor (umgekehrt beträgt die Prävalenz der PSC bei Colitis ulcerosa 4 %). Die meisten Patienten mit PSC weisen serologisch Autoantikörper gegen Granulozyten auf (pANCA), das Hauptzielantigen ist DNS-gebundenes Laktoferrin.

Literatur

1. Leung PS, Iwayama T, Prindiville T, Chuang DT, Ansari AA, Wynn RM, Dickson R, Coppel R, Gershwin M.E (1992) Use of designer recombinant mitochondrial antigens in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 15(3):367-372
2. Szostecki C, Will H, Netter HJ, Guldner HH (1992) Autoantibodies to the nuclear Sp100 protein in primary biliary cirrhosis and associated diseases: epitope specificity and immunoglobulin class distribution. *Scand J Immunol* 36(4):555-564
3. Sternsdorf T, Guldner HH, Szostecki C, Grotzinger T, Will H (1995) Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co-autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Immunol* 42(2):257-268
4. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E (1996) Anti-gp210 antibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. Identification of a 64 kD fragment of gp210 as a major epitope. *Hum Antibodies Hybridomas* 7(4):167-174
5. Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E, Penner E (1996) Autoantibodies against nucleoporin p62 constitute a novel marker of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 110(3):840-847
6. Szostecki C, Guldner HH, Will H (1997) Autoantibodies against "nuclear dots" in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 17(1):71-78
7. Zuchner D, Sternsdorf T, Szostecki C, Heathcote EJ, Cauch-Dudek K, Will H (1997) Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 26(5):1123-1130
8. Lapierre P, Hajoui O, Homberg JC, Alvarez F (1999) Formiminotransferase cyclodeaminase is an organ-specific autoantigen recognized by sera of patients with autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 116(3):643-649
9. Wies I, Brunner S, Henninger J, Herkel J, Kanzler S, Meyer zum Büschenfelde K-H, Lohse AW (2000) Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Lancet* 355(9214):1510-1515
10. Invernizzi PM, Podda PM, Battezzati A, Crosignani M, Zuin, Hitchman E, Maggioni M, Meroni PL, Penner E, Wesierska-Gadek J (2001) Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol.* 34(3):366-372
11. Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wesierska-Gadek J (2005). Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin.Liver Dis.* 25(3):298-310

Autoimmunität

Synonym(e)

Autoimmunreaktion

Englischer Begriff

Autoimmunity, autoimmune reaction

Definition

Reaktivität des Immunsystems gegen körpereigenes Gewebe

Volltext

Der Organismus verliert partiell die Fähigkeit, eigene von körperfremden Antigenen zu unterscheiden. Autoimmunreaktionen treten auf, sobald Schutzmechanismen ausfallen, die eine Reaktion des Immunsystems eines Organismus gegen seine Autoantigene verhindern, oder wenn durch besondere Ereignisse Autoimmunreaktionen stimuliert werden. Mehrere Pathomechanismen können zur Autoimmunität führen:

Aktivierung autoreaktiver Lymphocyten: Während der Selektionsprozesse, mit deren Hilfe autoreaktive Zellen aussortiert werden sollen, gelingt es Lymphocyten, einer Eliminierung oder Inaktivierung zu entgehen. Diese Zellen können später entweder spezifisch durch Autoantigene oder unspezifisch durch endogene oder exogene Faktoren aktiviert werden und Autoimmunreaktionen auslösen. Zelluläre Autoimmunität: Autoreaktive T-Lymphocyten infiltrieren die betroffenen Gewebe und eliminieren die Antigen-tragenden Zellen durch cytotoxische Effektormechanismen. Ein Beispiel für eine T-Lymphocyten-vermittelte Autoimmunreaktion ist die Zerstörung der Langerhans'schen Zellen im Pankreas bei Diabetes mellitus Typ I. Humorale Autoimmunität: Autoreaktive B-Lymphocyten entwickeln sich zu Plasmazellen, die gegen Autoantigene gerichtete Antikörper produzieren (Autoantikörper). Infolge der Immunreaktion mit den entsprechenden Zielantigenen wird das Komplementsystem aktiviert und schließlich eine Entzündungsreaktion herbeigeführt, mit nachfolgender Gewebeschädigung, an der Makrophagen und Granulocyten beteiligt sind. Zu den humoral vermittelten Autoimmunerkrankungen mit der hier geschilderten Pathogenese gehören beispielsweise systemischer Lupus erythematodes, Goodpasture-Syndrom oder Bullöses Pemphigoid.

Fehlende Schutzmechanismen: Im Rahmen physiologischer Vorgänge sterben Zellen im Körper ab und werden durch das Immunsystem eliminiert. Dazu muss es in der Lage sein, zwischen lebenden und toten körpereigenen Zellen zu unterscheiden. Vermutlich senden lebende Zellen bestimmte Signale aus, die sie vor einem Angriff durch das Immunsystem schützen (diskutiert wird in diesem Zusammenhang beispielsweise die Oberflächenexpression von HLA-DR). Tote Zellen sind dazu nicht mehr in der Lage und werden vom Immunsystem angegriffen und beseitigt. Wenn dieser Schutzmechanismus bei einem lebensfähigen Organ nicht mehr funktioniert, kommt es zu Autoimmunreaktionen, die sich aber gegen das ganze Organ richten und nicht gegen ein einzelnes, etwa abgewandeltes Autoantigen. Möglicherweise lässt sich dadurch erklären, weshalb man z. B. bei einer Autoimmun-Thyreoiditis häufig nebeneinander Autoantikörper gegen mehrere Schilddrüsenantigene findet: gegen den TSH-Rezeptor, gegen Thyreoglobulin und gegen Thyreoperoxidase. Auch bei Autoimmun-Diabetes-mellitus kommen oft beim selben Patienten mehrere, gegen den endokrinen Pankreasanteil gerichtete Autoantikörper vor, die Inseln zeigen eine (frustrane?) Überexpression von HLA-DR. Ein weiteres Beispiel ist die Myasthenia gravis.

Genetische Prädisposition: Bei vielen Autoimmunerkrankungen ist über einen Zusammenhang zwischen dem HLA-Phänotyp und dem Auftreten der Krankheit berichtet worden. Darüber hinaus spielt oft auch das Geschlecht eine Rolle, manche Erkrankungen treten bevorzugt bei Frauen auf (z. B. Multiple Sklerose, systemischer Lupus erythematodes, Primär-biliäre Lebercirrhose, Bullöses Pemphigoid).

Freisetzung isolierter Antigene: Im Körper gibt es mehrere sog. immunprivilegierte Bereiche, die durch spezielle Barrieren (z. B. Blut-Hirn-Schranke) vom Immunsystem getrennt sind. Dazu zählen unter anderem Hoden, Auge und Gehirn. Eine Immunreaktion gegen Autoantigene dieser Gewebe findet normalerweise nicht statt. Werden sie jedoch als Folge von Gewebeschädigungen (Verletzungen, Operationen o. ä.) dem Immunsystem in ungewohnter Weise exponiert, rufen sie eine Autoaggression hervor. So findet man z. B. nach Vasektomien gelegentlich Autoantikörper gegen Spermatozoen. Ebenso kann nach der Verletzung eines Auges und dem Freisetzen augenspezifischer Antigene in den Blutkreislauf eine Autoimmunreaktion sowohl gegen das betroffene, als auch gegen das gesunde Auge erfolgen (sympathische Ophthalmie).

Kreuzreaktionen bei Infektionen: Die Infektion des Organismus mit Bakterien, Viren oder Parasiten führt zu einer Immunreaktion und zur Bildung von Antikörpern. Wenn die Zielantigene dieser Antikörper eine große Ähnlichkeit mit körpereigenen Antigenen aufweisen (molekulares Mimikry), können Kreuzreaktionen auftreten. Eine Immunreaktion gegen körpereigenes Gewebe ist die Folge, wie z. B. eine Autoimmunreaktion gegen Nieren- oder Herzge-

webe nach einer Streptokokkeninfektion oder eine Enzephalitis nach Tollwutimpfung.

Paraneoplastische Syndrome: Entwickelt sich ein Tumor im Körper, kann es zu einer tumorspezifischen Immunreaktion und zur Bildung von Antikörpern kommen. Falls die Antikörper, die ursprünglich gegen Tumorantigene gerichtet sind, mit Autoantigenen kreuzreagieren, können verschiedene Erkrankungen die Folge sein, wie z. B. das paraneoplastische Kleinhirnsyndrom: Hier entwickeln sich im Zusammenhang mit z. B. einem Ovarialkarzinom Autoantikörper gegen die Purkinjezellen des Kleinhirns (Yo).

Literatur

1. Murphy K, Travers P, Walport M (2011) Janeway's Immunobiology. Taylor & Francis Ltd., 8. Ausgabe
2. Nakamura RM (2001) Concepts of Autoimmunity and Autoimmune Diseases. In: Clinical and Laboratory Evaluation of Human Autoimmune Diseases (Nakamura RM, Keren DF, Bylund DJ (Editors)), ASCP Press, Chicago, 13-35

Enzymimmuntest

Synonym(e)

Enzymimmunoassay, EIA

Englischer Begriff

Enzyme immunoassay

Definition

Immuntest für den Nachweis von Antigenen oder Antikörpern, bei dem Enzyme zur Markierung immunologischer Reaktionspartner eingesetzt werden. Die Enzyme katalysieren eine von der Konzentration des Messparameters der Probe abhängige Reaktion, die visuell erfasst oder durch Photometrie, Fluorometrie, Luminometrie oder andere Detektionsmethoden quantifiziert wird. Zur Markierung bevorzugte Enzyme sind Meerrettichperoxidase, alkalische Phosphatase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Enzymimmunoassays teilen sich in zwei große Kategorien auf: Die heterogenen Assays, bei denen eine physikalische Phasentrennung obligat ist und der gebundene oder ungebundene markierte Reaktionspartner gemessen wird, sowie die homogenen Assays, bei denen keine Phasentrennung erforderlich ist und der freie Anteil des markierten Reaktionspartners in Gegenwart des gebundenen Reaktionspartners gemessen wird oder umgekehrt.

Eine andere Klassifizierung unterscheidet kompetitive Assays, bei denen zwei Reaktionspartner (einer von ihnen die zu bestimmende Substanz) simultan oder nacheinander um einen dritten konkurrieren, und nichtkompetitive Assays (Sandwich-Assays), bei denen die zu bestimmende Substanz von zwei Reaktionspartnern umfassen wird. Die Bindung an beide Reaktionspartner kann simultan (Einschritt-Assay) oder in zwei Schritten erfolgen.

Ferner werden Assays zum Antigen- von Assays zum Antikörpernachweis unterschieden.

Heterogene Enzymimmunoassays sind meistens als Festphasentests aufgebaut (ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay). Eine Komponente der Immunreaktion, Antigen oder Antikörper, ist an einen Träger fixiert: Röhrchenwand, Kugel, Magnetpartikel, Mikrotiterplatte oder Membran. Der heterogene EIA beinhaltet mindestens zwei Arbeitsschritte: Der Antigen-Antikörper-Reaktion folgt die Enzym-Substrat-Reaktion. Bei heterogenen Flüssigphasen-Assays werden gebildete Immunkomplexe von den ungebundenen Komponenten durch Adsorption, Fällung, Immunpräzipitation oder Affinitätsbindung abgetrennt. Heterogene Enzymimmuntests eignen sich zur Bestimmung von Substanzen mit sowohl niedrigem (Haptene) als auch höherem Molekulargewicht (Antigene, Antikörper). Das Messsignal ist bei diesen Assays direkt proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Antigens oder Antikörpers.

Bei den heterogenen, kompetitiven Enzymimmunoassays konkurriert das Antigen der Probe mit einer definierten Menge markierten Antigens um die Bindungsstellen eines im Unterschuss vorliegenden spezifischen Antikörpers, der an eine feste Phase gekoppelt ist. Während der Inkubation stellt sich ein Gleichgewicht zwischen markiertem und nichtmarkiertem Antigen ein. Je mehr natürliches Antigen die Probe aufweist, umso weniger markiertes Antigen wird gebunden. Bei einer weiteren kompetitiven Methode konkurrieren Festphase-gebundenes Antigen und Antigen der Probe um einen markierten Antikörper. Je weniger Antigen die zu untersuchende Probe enthält, umso mehr markierte Antikörper binden sich an das Festphase-fixierte Antigen (immunenzytometrischer Test). Auch in diesem Fall ist das Messsignal umgekehrt proportional zur Antigen-Konzentration in der Probe.

Heterogene, nichtkompetitive Enzymimmunoassays werden auch als „Sandwich Enzymimmunoassays“ bezeichnet. Die wichtigste Form ist der ELISA, eine Sonderform der Capture Assays: Hier wird das zu messende Antigen (Antigen Capture Assay) oder der zu bestimmende Antikörper (Antibody Capture Assay) der Probe zwischen zwei Antikörpern bzw. zwei Antigenen gebunden. Zur Antigenbestimmung wird das Antigen der Probe in einem ersten Inkubationsschritt mit einem an der festen Phase fixierten (Capture-)Antikörper zur Reaktion gebracht. Anschließend werden die ungebundenen Anteile der Probe mit einem Waschschrift entfernt. Je höher die Antigen-Konzentration der Probe ist, umso mehr Antigen kann gebunden werden. Im nächsten Schritt reagieren die enzymmarkierten Antikörper mit den Immunkomplexen an der festen Phase, und nach Beendigung der Reaktionszeit wird überschüssiger Marker mit einem Waschschrift entfernt.

Beim Einschritt-Assay werden die maßgeblichen Reaktanden simultan inkubiert – entweder die Antigen-Probe zusammen mit den enzymmarkierten Antikörpern und den Festphase-fixierten Antikörpern, oder der zu bestimmende Antikörper mit den markierten Antikörpern und dem an die feste Phase fixierten Antigen. Anschließend werden ungebundene Anteile der Probe gewaschen, und man lässt die Enzym-katalysierte Farbreaktion ablaufen.

Es existiert eine Vielfalt von Varianten nichtkompetitiver Enzymimmunoassays: Beim μ -Capture Assay wird Spezies-spezifisches IgG, das gegen den Fc-Teil des IgM gerichtet ist, an die feste Phase gekoppelt. Hier verankert sich das IgM der Probe. Davon binden die antigenspezifischen IgM-Moleküle zugesetztes korrespondierendes Antigen. Zur Messung der gebundenen Antigenmenge wird ein gegen das Antigen gerichteter, enzymmarkierter IgG-Antikörper hinzugegeben, danach wird gewaschen, und man lässt die Farbreaktion ablaufen (das Antigen kann auch direkt markiert werden, ein Inkubationsschritt wird gespart). Vorteile des μ -Capture Assay: Geringere Antigenabschwächung im Vergleich zur direkten Antigen-Bindung an die Festphase, keine Störung durch Rheumafaktoren. Nachteil: Für jeden Parameter ist ein spezielles Markierungsreagenz erforderlich, man kann nicht mehrere Analyte im selben Tropfen untersuchen.

Die homogenen Enzymimmunoassays erfordern keine Phasentrennung, alle Komponenten der Immun- und Substratreaktion sind in Lösung. Bei EMIT konkurriert das enzymmarkierte Reagenzantigen mit dem unmarkierten Antigen der Probe um begrenzt zur Verfügung stehende Antikörper-Bindungsstellen. Dabei ist das enzymmarkierte Antigen in freier Form entweder enzymatisch aktiv und wird nach Antikörperbindung inaktiviert oder umgekehrt. Als Messsignal dient die Änderung der enzymatischen Aktivität. Das Messsignal verhält sich hier proportional oder umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Beim Inhibitor-labelled EIA ist das Antigen an den Inhibitor eines Enzyms gekoppelt. Antikörper gegen das Antigen blockieren den Inhibitor, so dass dieser den Substratumsatz des Enzyms nicht hemmen kann. Zugabe des Antigens (Probe) entfernt den korrespondierenden Antikörper vom Inhibitor, der nun den Substratumsatz des Enzyms hemmt. Das Messsignal verhält sich hier umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Bestimmt werden können mit diesen EIA-Techniken vorwiegend Antigene mit niedrigem Molekulargewicht (Haptene). Bei den immunchromatographischen EIA ist der spezifische Antikörper für das zu bestimmende Antigen an eine feste Phase, z. B. Zelluloseacetatfolie, gebunden. Werden die antigenhaltige Probe und das enzymmarkierte Antigen auf die Folie getropft, konkurrieren beide um die begrenzte Anzahl immobilisierter Antikörper und binden sich an diese. Der ungebundene Anteil enzymmarkierten Antigens wandert aus der Reaktionszone, und seine katalytische Aktivität wird durch Substratzugabe bestimmt. Sie ist direkt proportional zur Antigen-Konzentration der Probe. Diese Technik gestattet vor allem die Bestimmung von Antigenen mit großem Molekulargewicht.

Einsatzgebiet

Bestimmung von Antigenen und Antikörpern

Untersuchungsmaterial

entfällt

Instrumentalisierung

Aufgrund der Vielfalt der Enzymimmunoassay-Systeme existieren die unterschiedlichsten Geräte zur manuellen und automatisierten Durchführung.

Sensitivität

Die analytische Sensitivität von Enzymimmunoassays mit Farbdetektion liegt bei 10^{-16} mol/l, mit Fluoreszenzdetektion bei 10^{-18} mol/l und mit Chemilumineszenzdetektion bei 10^{-20} mol/l.

Fehlermöglichkeit

Ein Störfaktor, der zu einer starken Verfälschung der Messwerte führen kann, ist bei Sandwich-Enzymimmunoassays, die nach dem immunometrischen Prinzip der Einschnitt-Inkubation funktionieren, der High-dose-Hook-Effekt (Prozonen-Phänomen). Falsch positive Resultate werden darüber hinaus durch Rheumafaktoren der Klasse IgM in Sandwich-Enzymimmunoassays zum Nachweis spezifischer IgM-Antikörper verursacht, wenn die zu untersuchende Probe auch spezifische IgG-Antikörper enthält, falsch zu niedrige IgM-Werte können durch konkurrierendes spezifisches IgG entstehen.

Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Enzymimmunoassays können manuell und automatisiert durchgeführt werden.

Literatur

1. Deshpande SS (1996) Enzyme immunoassays: From concept to product development. Chapman & Hall, New York:231-273
2. Wild D (2001) The Immunoassay Handbook. Nature Publishing Group, New York:3-39

Immunblot

Synonym(e)

Immunoblot, Westernblot

Englischer Begriff

Immunoblot, Western blot

Definition

Als „Immunblot“ wird eine Technik bezeichnet, bei der Proteine oder andere Antigene auf Nitrozellulose-, Nylon- oder andere Membranen aufgetragen oder übertragen werden, und Streifen der Membranen dann nacheinander mit Patientenproben, enzymmarkierten Antikörpern und einem präzipitierenden Substrat inkubiert werden. Positive Reaktionen stellen sich auf den Membranstreifen als Farbbanden dar, die visuell oder automatisch mit Scanner- oder Kamerasystemen ausgewertet werden.

Eine Sonderform des Immunblot ist der Westernblot, hier werden die Antigene zunächst elektrophoretisch aufgetrennt, bevor man sie durch einen Elektrotransfer auf die Membran überträgt.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Das Immunoblotting (Variante Westernblot) besteht aus drei Arbeitsschritten. Beim ersten Schritt, der elektrophoretischen Trennung eines Proteingemisches in Einzelproteinfraktionen, werden als Trenntechniken vorwiegend die hochauflösende ein- oder zweidimensionale Flachgel-Elektrophorese oder die isoelektrische Fokussierung eingesetzt. Trägermaterialien sind Polyacrylamid oder Agarose. Der sekundäre Träger immobilisiert die Proteine, so dass keine Diffusion mehr stattfinden kann, er besteht z. B. aus Nitrozellulose oder Nylon. Der Proteintransfer vom primären auf den sekundären Träger erfolgt durch einfache oder unterstützte Diffusion (Vakuum, Überdruck, Unterdruck), oder elektrophoretisch (Elektroblotting). Nach dem Transfer der Proteine werden durch Blockierungssubstanzen unspezifische Bindungsstellen des sekundären Trägers abgesättigt. Der dritte Arbeitsschritt beinhaltet die spezifische Immunreaktion unter Verwendung spezifischer Antikörper, die bei Einsatz eines enzymmarkierten Zweitantikörpers in einer Farbreaktion sichtbar gemacht wird. Beurteilt wird das entstandene Bandenmuster. Alternativ zu Enzymen kommen auch andere Marker (β -Strahler, Lumineszenzmarker) zur Anwendung.

Einsatzgebiet

Nachweis von Antigenen und Antikörpern

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Instrumentalisierung

Es gibt Inkubationsautomaten, Scanner, Kamerasysteme und eine entsprechende Software für die automatische Auswertung.

Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit der Methode sehr empfindliche und spezifische Nachweise.

Literatur

Peters JH, Baumgarten H (1988) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg 2. Auflage:444-450

Immunfluoreszenz, indirekte

Synonym(e)

Indirekter Immunfluoreszenztest, IIF, IIFT

Englischer Begriff

(indirect) immunofluorescence test / assay (IIFA, IFA)

Definition

Die indirekte Immunfluoreszenz ist ein Nachweisverfahren für Antikörper, das auf einer spezifischen Reaktion der Antikörper mit einem geeigneten Antigen-Substrat und einer darauffolgenden Markierungsreaktion mit einem Fluoreszenzfarbstoff-gekoppelten Zweitantikörper beruht.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Als Substrate für die indirekte Immunfluoreszenz verwendet man Kulturzellen, Gewebeschnitte, Zellausstriche oder mit aufgereinigten, biochemisch charakterisierten Substanzen beschichtete Oberflächen. Die Substrate befinden sich auf Objektträgern und werden mit verdünntem Patientenserum inkubiert. Bei positiven Proben binden sich die nachzuweisenden Autoantikörper spezifisch an das Substrat-Antigen. Bei einem sich anschließenden Waschschriff werden überschüssige, nicht gebundene Antikörper entfernt. Die gebundenen Autoantikörper werden daraufhin mit einem gegen humane Antikörper gerichteten Zweitantikörper markiert, an den ein Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt ist, z. B. das oft verwendete FITC (Fluorescein-Isothiocyanat; FITC-Anti-Human-Immunglobulin). Nach einem weiteren Waschschriff, der überschüssige Zweitantikörper beseitigt, wird das Fluoreszenzmuster des Substrats unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht und dabei auch die Intensität der Reaktion beurteilt.

Einsatzgebiet

Der IIFT wird insbesondere zur Bestimmung von Autoantikörpern und Antikörpern gegen Infektionserreger eingesetzt.

Zur Quantifizierung der Antikörper bei positiven Reaktionen wird eine Titration der Serumproben vorgenommen, zum Beispiel in Schritten von 1:10 oder 1:3,2 (Quadratwurzel aus 10). Die einzelnen Verdünnungsstufen lassen sich ohne Zahlenakrobatik leicht angeben (1:3,2, 1:10, 1:32, 1:100, 1:320, 1:1.000 usw.). Wer engere Abstände vorzieht, kann mit einem Verdünnungsfaktor von 2,2 arbeiten (dritte Wurzel aus 10; 1:10, 1:22, 1:46, 1:100, 1:220, 1:460, 1:1.000 usw.). Bisher hat man mit quadratischen Verdünnungsstufen die Genauigkeit übertrieben, mit Titrationsschritten um den Faktor 4 dagegen ein zu grobes Raster vorgegeben.

Für jeden Testparameter gibt es eine geeignete Ausgangsverdünnung. Zur Vereinfachung des Testablaufs und der Befundung unterscheidet man zwei Autoantikörper- (AAk-) Kategorien: Antikörper der Gruppe I (meiste organ-spezifische AAK, ANCA, AAK gegen dsDNS) sind bereits bei einem Titer von 1:10 diagnostisch relevant, Antikörper der Gruppe II (ANA, AMA, ASMA, AAK gegen Skelettmuskel) dagegen erst bei 1:100. Dem für jede Probe ermittelten Titer werden die Symbole (+) bis ++++ zugeordnet, wobei der für beide Gruppen unterschiedlichen klinischen Bedeutung der Antikörper-Titer Rechnung getragen wird:

Gruppe I 1: 10 = +, 1: 100 = ++, 1: 1.000 = +++

Gruppe II 1:100 = +, 1:1.000 = ++, 1:10.000 = ++++

Untersuchungsmaterial

Serum oder Plasma

Spezifität

Unter den vielen Nachweistechiken für Autoantikörper bietet die indirekte Immunfluoreszenz die höchste Spezifität – vorausgesetzt, die Probe wird in einer geeigneten Verdünnung untersucht. Da diese nicht von vornherein bekannt ist, werden Experten für die Bestimmung vieler Autoantikörper zwei unterschiedliche Verdünnungen parallel inkubieren. Mehrere Gesichtspunkte spielen dabei eine Rolle:

Blockierungs-Effekt: Bei zwei von 100 hochtitrigen Seren ergibt sich in der üblichen Ausgangsverdünnung ein untypisches Bild. Manche hochpositiven Seren reagieren sogar falsch-negativ, wenn sie nicht ausreichend verdünnt wurden. Die spezifischen Antikörper scheinen sich gegenseitig zu blockieren.

Überdeckung eines Autoantikörpers: Bei zu geringer Verdünnung können unspezifische Antikörper oder zusätzlich vorliegende optisch dominierende Autoantikörper einen relevanten Autoantikörper überdecken.

Unterschiedliches Abklingverhalten bei Titration: Der Titer eines Autoantikörpers sollte ausreichend zuverlässig bestimmt werden: Je höher der Titer, desto höher ist im allgemeinen seine Krankheits-Spezifität. Autoantikörper verhalten sich aber bei der Titration je nach Avidität sehr unterschiedlich: Manche Proben mit einer schwachen Reaktion in der Ausgangsverdünnung ergeben oft unerwartet hohe Titer, andere Proben mit initial starker Fluoreszenz können niedrige Titer aufweisen. Daher ist es unmöglich, ein positives Ergebnis aus einer einzigen Verdün-

nung zu quantifizieren: Photometrische Systeme sowohl auf enzymimmun-cytochemischer, als auch auf Fluoreszenzbasis, die das zu leisten versprechen, sind nicht akzeptabel. Ein Parallelansatz mit zwei Verdünnungen im Abstand um den Faktor 10 ermöglicht es dagegen ohne weiteres, einen Titer mit ausreichender Genauigkeit in Schritten von Wurzel aus 10 zu schätzen. Der Befund ist sofort fertig, bei realer Titration erst am Folgetag.

Fehlermöglichkeit

Die Herstellung standardisierter Reagenzien für den IIFT in zertifizierbarer Qualität ist kein leichtes Unterfangen. Darüber hinaus setzen die Durchführung der Inkubation und die Befundung der Fluoreszenzmuster ein hohes Maß an Erfahrung voraus. Sind die entsprechenden Voraussetzungen nicht gegeben, bietet die IIFT ein weites Feld an Störquellen. Man hat sich exakt an die Arbeitsanleitungen zu halten. Qualitätsmängel der verwendeten Diagnostika und gravierende Fehler bei der Analysetechnik werden größtenteils durch mitgeführte positive und negative Kontrollproben aufgedeckt.

Bewertung/Methodenhierarchie (allg.)

Die indirekte Immunfluoreszenz gilt als Standardtechnik für den Nachweis von Autoantikörpern. Ihre hohe Kompetenz basiert auf folgenden Leistungsmerkmalen:

Einfachste Präparation der Testsubstrate: Gefrierschnitte, Kulturzellen und Zellausstriche lassen sich ohne großen technischen Aufwand herstellen. Die Antigene müssen nicht mit komplizierten biochemischen Verfahren extrahiert oder an Oberflächen gekoppelt werden.

Ein Substrat – Screening 100 verschiedener Autoantikörper: Mit HEp-2-Zellen oder verschiedenen Gefrierschnitten kann man in einem einzigen Analysenansatz eine Vielzahl von Autoantikörpern gleichzeitig untersuchen. Bei einem negativen Befund wird die Präsenz aller dieser Antikörper ausgeschlossen.

Eine Methode (eine SOP) – 1000 verschiedene Testparameter: Die Prozedur der Inkubationen ist bei der Immunfluoreszenz für viele Autoantikörper identisch und lässt sich sehr leicht standardisieren. Die Kombination verschiedener Substrate auf einem Testfeld eignet sich hervorragend zur Diagnostik von Autoantikörper-Profilen.

Hohe Spezifität durch visuelle Diskriminierung: Die Antikörper sind morphologisch punktgenau wie das korrespondierende Antigen lokalisiert, für jeden Antikörper ergibt sich ein charakteristisches Fluoreszenzmuster, das oft auch bei unspezifischen Begleitreaktionen identifiziert werden kann. Dagegen können viele Antikörper mit histochemischen Enzymimmunfärbungen nicht differenziert werden, da sich hier das Farbprodukt diffus und ungenau um das Antigen herum verteilt.

Methode der Wahl, wo definiertes Testantigen nicht verfügbar: Im Gegensatz zu ELISA oder RIA ist bei der Immunfluoreszenz das gesamte Antigenspektrum der Ausgangssubstrate vorhanden. Daher kann man auch Autoantikörper gegen noch unbekannte Antigene untersuchen oder gegen Antigene, die man bisher nicht isolieren kann. Die meisten der heute bekannten Autoantikörper wurden durch indirekte Immunfluoreszenz entdeckt!

Die indirekte Immunfluoreszenz ist und bleibt eine hochmoderne serologische Technik, auf die ein gewissenhafter Diagnostiker nicht verzichten wird. Sie wird sinnvoll ergänzt durch Methoden wie ELISA, Westernblot oder Linienblot.

Immunkomplexe, zirkulierende

Englischer Begriff

Circulating immune complexes (CIC)

Definition

Immunkomplexe bestehen aus Antigenen und korrespondierenden Antikörpern. Sie werden ständig als Folge der physiologischen Immunantwort des Organismus gebildet, ihre Konzentration im Serum ist normalerweise aber sehr gering. Übersteigt im Krankheitsfall die Menge der gebildeten Immunkomplexe die Aufnahmefähigkeit der Phagozyten, können zirkulierende Immunkomplexe im Serum nachgewiesen werden.

Volltext

Hohe Konzentrationen zirkulierender Immunkomplexe sind Folge einer Überproduktion oder eines insuffizienten Abbaus und treten etwa bei unbewältigten Infektionen und einigen Autoimmunerkrankungen auf. Die Immunkomplexe lagern sich im Gewebe ab und rufen Entzündungsprozesse hervor, zum Beispiel bei systemischem Lupus erythematodes (SLE), rheumatoider Arthritis (RA), Cryoglobulinämie und Vasculitis. Erhöhte Serumkonzentrationen zirkulierender Immunkomplexe werden auch gefunden bei bakteriellen, viralen und parasitären Infektionen, Allergien, chronischen Erkrankungen der Haut und des Verdauungstrakts, Neoplasmen und neurologischen Erkrankungen.

Obwohl die Krankheits-Spezifität gering ist, können durch die Bestimmung zirkulierender Immunkomplexe nützliche Informationen zu Immunpathologie, Verlauf und Prognose mancher Erkrankungen gewonnen werden, oft wertet man sie als Marker für die Aktivität der Krankheit und nutzt sie zur Therapiekontrolle.

Zirkulierende Immunkomplexe werden vorwiegend mit Hilfe Antigen-unspezifischer Methoden bestimmt, dazu gehören ein C1q-Festphasen-ELISA oder ein nephelometrischer C1q-Bindungstest.

Kreuzverweis(e)

Immunkomplexe, zirkulierende

Literatur

Hebert LA, Birmingham DJ, Cosio FG, Sedmak DD (1994) Circulating immune complexes. In: Van Oss CJ, Van Regenmortel MHV (eds): Immunochemistry. Marcel Dekker, New York:653-680

Immunodot

Synonym(e)

Immudot

Englischer Begriff

Immunodot, dot-immunobinding test, dot blot

Definition

Der Immunodot ist ein einfach durchzuführender Test, der zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern verwendet wird. Dabei werden die Antigene oder Antikörper punkt- oder linienförmig auf einer Membran immobilisiert und dort mit dem entsprechenden Bindungspartner des Reagens (dem korrespondierenden Antikörper oder Antigen) zur Reaktion gebracht.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Antigen oder Antikörper einer Probe werden auf eine Nitrozellulose- oder Nylonmembran aufgetragen. Frei gebliebene Bindungsstellen werden mit Fremdproteinen, z. B. Rinderserumalbumin oder Casein, abgesättigt. Die Membran wird dann nacheinander mit folgenden Nachweisreagenzien inkubiert: Spezifischer Antikörper oder spezifisches Antigen, enzymmarkierter Antikörper und Substratlösung (die einen präzipitierenden Farbniederschlag auf der Membran erzeugt). Positive Reaktionen stellen sich als Farbpunkte in einer hellen Umgebung dar.

Einsatzgebiet

Es lassen sich Antigene und Antikörper nachweisen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma, Zellüberstand, Zellhomogenat, Zell-Lysat

Instrumentalisierung

Es gibt Geräte zur simultanen Testung von 96 Proben im Mikrotiterplatten-Format. Mit geringem apparativem Aufwand sind semiquantitative Aussagen möglich.

Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit der Methode sehr empfindliche Nachweise.

Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Der Immunodot-Assay kann automatisiert durchgeführt werden.

Literatur

Peters JH, Baumgarten H (1998) Monoklonale Antikörper – Herstellung und Charakterisierung. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 2.Auflage:396-403

Line-Assay

Synonym(e)

Streifen-Test

Definition

Der Line-Assay ist ein einfach durchzuführender Test zum Nachweis von Antigenen oder Antikörpern. Die Antigene oder Antikörper werden linienförmig auf einer Membran immobilisiert und dort mit dem entsprechenden Reaktionspartner der Probe zur Reaktion gebracht. Durch eine parallele Anordnung der Linien sind Multiparametertests möglich.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Verschiedene Antigene oder Antikörper werden in Form parallel verlaufender Linien auf eine Nitrozellulose- oder Nylonmembran gedruckt. Jede Linie repräsentiert ein individuelles Antigen oder einen individuellen Antikörper. Da eventuell freie Bindungsstellen im weiteren Verlauf noch andere Proteine, und damit auch unspezifisch die Nachweisreagenzien, binden können, müssen sie mit Fremdproteinen, z. B. Rinderserumalbumin oder Casein, abgesättigt (blockiert) werden. Die Membran wird dann nacheinander mit einer Patientenprobe, mit enzymmarkierten Antikörpern und mit einem chromogenen Substrat inkubiert, das bei positiven Reaktionen einen präzipitierenden Farbstoff bildet. Diese stellen sich als Linien dar.

Einsatzgebiet

Es lassen sich Antigene und Antikörper mit dem Line-Assay nachweisen. Der Line-Assay eignet sich besonders für Mehrparameterbestimmungen.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Instrumentalisierung

Line-Assays können mit Hilfe von Inkubationsautomaten, Scannern, Kamerasystemen und entsprechender Software automatisiert durchgeführt und ausgewertet werden.

Sensitivität

Je nach Detektionssystem gelingen mit dieser Methode sehr empfindliche Nachweise.

Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Die automatisierte Durchführung des Line-Assay zur Mehrparameteranalyse macht diesen Test sehr preisgünstig.

Lupus-Antikoagulans

Synonym(e)

Lupus Antikoagulantien, Anti-Prothrombinase

Englischer Begriff

Lupus anticoagulant

Definition

Lupus-Antikoagulans sind Antikörper verschiedener Immunglobulinklassen (IgG, IgM, IgA), die sich an Phospholipid-Protein-Komplexe binden. Sie sind mit Phospholipid-Antikörpern verwandt, aber nicht mit ihnen identisch.

Funktion und Pathophysiologie

Als Lupus-Antikoagulans werden nur solche Antikörper bezeichnet, die die Phospholipid-abhängige Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin verzögern. Sie können somit in vitro zu einer Verlängerung vor allem der partiellen Thromboplastinzeit (PTT), aber auch der Thromboplastinzeit (TPZ) führen.

Klinisch resultiert jedoch selten eine Blutungsneigung, sondern bei Vorliegen dieser Antikörper findet man vielmehr arterielle oder venöse Thrombosen. Wenn die Plazenta der Ort der Thrombosierung ist, kommt es zu rezidivierenden Aborten.

Analytik

Lupus-Antikoagulans wird mittels Gerinnungstests bestimmt. Suchtest ist die Phospholipid-abhängige PTT (Partielle Thromboplastinzeit)-Bestimmung. Bei positivem Suchtest erfolgt ein Bestätigungstest (DRVVT, Dilute-Russell-Viper-Venom-Test).

Die PTT erfasst die endogene Aktivierung des Gerinnungssystems sowie die gemeinsame Endstrecke. Verlängerung durch Mangel an den Faktoren I, II, V, VIII, IX, X, XI, XII, XIV und XV.

Beim DRVVT führt das Schlangengift Russell-Viper-Venom zu einer direkten Aktivierung von FX. Wenn die Phospholipid-Konzentration des Testansatzes gesenkt wird, bleibt die Gerinnung bei Anwesenheit von Lupus-Antikoagulans aus.

Lupus-Antikoagulans sollte durch entsprechende Folgeuntersuchungen bestätigt sowie ein passageres Lupus-Antikoagulans durch Verlaufskontrollen ausgeschlossen werden.

Untersuchungsmaterial

Citrat-Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Lupus Antikoagulans wird zur serologischen Diagnostik des Anti-Phospholipid-Syndroms (APS) bestimmt. Zur Abklärung einer Thromboseursache, einer klinisch nicht erklärbaren Thrombocytopenie oder von wiederholten Aborten ist eine Lupus Antikoagulans-Diagnostik stets geboten.

Sieheverweis(e)

Autoantikörper gegen Phospholipide

Literatur

1. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I (1995) Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. *Thromb Haemost* 74:1185-1190
2. Tripodi A (2007) Laboratory testing for lupus anticoagulants: a review of issues affecting results. *Clin Chem* 53:1629-1635

Myositis-spezifische Autoantikörper

Synonym(e)

Myositis-assoziierte Autoantikörper

Englischer Begriff

Myositis-specific autoantibodies

Definition

Die Autoimmun-Myositis (idiopathische inflammatorische Myopathien) ist eine systemische Autoimmunerkrankung mit Entzündung der Skelettmuskulatur, sie ist mit verschiedenen serologisch identifizierbaren Autoantikörpern assoziiert.

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Analytik

Für den Nachweis Myositis-assoziiertes Autoantikörper in Serum oder Plasma kommen verschiedene Techniken in Frage: Indirekte Immunfluoreszenz mit Gewebeschnitten oder Zellkultursubstraten, Enzymimmuntests, Immunblot und andere.

Untersucht werden vorwiegend Autoantikörper der Immunglobulinklasse IgG, die wichtigsten bekannten Zielantigene sind: PM-Scl-75, PM-Scl-100, Ku, Mi-2, SRP, Jo-1, PL-7, PL-12, OJ, EJ und Ro-52.

Referenzbereich

Negativ

Interpretation

Antikörper gegen **PM-Scl (PM-1)** sind gegen mehrere Proteine des nukleolären PM-Scl-Makromolekular-komplexes gerichtet. Die beiden Haupt-Antigen-Protein-Komponenten sind PM-Scl-75 und PM-Scl-100, die nach ihren Molekulargewichten unterschieden werden. Diese Antikörper werden bei 50-70 % der Patienten mit Überlappungs-Syndrom nachgewiesen (Overlap-Syndrom). Dieses vereinigt Symptome von Polymyositis, Dermatomyositis und Systemischer Sklerose (SSc). Patienten mit SSc allein zeigen hauptsächlich Antikörper gegen PM-Scl-75, während bei Patienten mit dem Krankheitsbild des Overlap-Syndroms die Autoantikörper gegen PM-Scl-75 und PM-Scl-100 gerichtet sind. Bei Tests, die ausschließlich Anti-PM-Scl-100 detektieren, bleibt der Hauptanteil an SSc-Patienten unentdeckt.

Antikörper gegen **Ku** kommen mit einer Prävalenz von bis zu 10 % beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) vor. Patienten mit Anti-Ku-Antikörpern zeigen zu je 40 % Symptome einer Myositis oder einer Systemischen Sklerose (SSc).

Antikörper gegen **Mi-2** sind hochspezifisch für eine Dermatomyositis mit Nagelfalz-Hyperthrophie. Sie werden bei 15-30 % der Patienten mit Dermatomyositis und bei 8-12 % der Patienten mit idiopathischer Myositis beobachtet.

Antikörper gegen **SRP** präsentieren sich bei Polymyositis und Dermatomyositis, in ca. 5 % der Fälle. Sie sind zudem Marker für die nekrotisierende Myopathie, eine Autoimmunmyopathie, die sich von der Polymyositis unterscheidet, aber typische Hautveränderungen wie die der Dermatomyositis aufweisen kann. Ihre Symptome sind akute, schwere, proximale, symmetrische Skelettmuskelschwäche, Muskelschmerzen, mitunter ist auch der Herzmuskel beteiligt. Extramuskuläre Krankheitszeichen können interstitielle Lungenerkrankungen sein.

Antikörper gegen **Jo-1** werden bei Polymyositis mit einer Prävalenz von 25-55 % angetroffen. Sie sind häufig mit gleichzeitig bestehenden anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert wie SLE, SSc, interstitieller Lungenfibrose, Raynaud-Syndrom, Polysynovitis.

Antikörper gegen **PL-7** kommen mit einer Prävalenz von ca. 3-6 % bei Myositis vor, z. T. überlappend mit SLE, SSc oder interstitieller Lungenfibrose.

Antikörper gegen **PL-12** werden mit einer Prävalenz von bis zu 3 % bei Myositis nachgewiesen.

Antikörper gegen **OJ** sind assoziiert mit Myositis (Prävalenz 3 %) und interstitieller Lungenfibrose (Prävalenz 3 %). Weiter findet man Antikörper gegen OJ bei Raynaud-Syndrom und bei Overlap-Syndrom mit Rheumatoider Arthritis. Hauptsymptome sind Muskelschwäche, z. T. in Verbindung mit Polyarthritiden.

Antikörper gegen **EJ** sind diagnostische Marker für Polymyositis. Sie können auch bei interstitieller Lungenfibrose, Overlap-Syndrom mit systemischem Lupus erythematoses, Arthritis und Raynaud-Syndrom festgestellt werden.

Antikörper gegen **Ro-52** treten mit einer Prävalenz von 25 % bei Myositis auf. Sie kommen auch bei einigen rheumatischen und nicht-rheumatischen Erkrankungen vor, etwa bei neonatalem Lupus erythematoses mit kongenitalem Herzblock.

Literatur

1. Targoff IN; Trieu EP; Plotz PH; Miller FW (1992) Antibodies to glycyl-transfer RNA synthetase in patients with myositis and interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 35:821-830
2. Kato K, Katayama M, Fukatani S, Asano S, Oshima H, Yoshida T, Torikai K, Sudo Y, Yoshida N, Noda Y (1998) Anti-EJ antibody as diagnostic markers for a case of Polymyositis. *Nippon Naika Gakkai Zasshi* 87:338-339
3. Scheper T, Klatt P, Teegen B, Jarzabek-Chorzelska M, Kolacinska-Strasz Z, Meyer W, Schlumberger W, Stöcker W (2002) Anti-Mi-2 westernblot: A new test for the serological detection of myositis specific autoantibodies. *Autoimmunity Reviews* 1(1-2):17
4. Nierengarten MB (2004) Anti-Signal Recognition Particle Autoantibody Not Specific Only For Polymyositis. *Arthritis Rheum* 50:209-215
5. Genth E (2005) Inflammatory muscle diseases: Dermatomyositis, polymyositis, and inclusion body myositis. *Internist (Berl)* 46:1218-1232
6. Hengstman GJD, ter Laak HJ, Vree Egberts WTM, Lundberg IE, Moutsopoulos HM, Vencovsky J, Doria A, Mosca M, van Venrooij WJ, van Engelen BGM (2006) Anti-SRP autoantibodies, marker of a necrotizing myopathy. *Ann Rheum Dis.* 65(12):1635-1638
7. Yoshifuji H, Fujii T, Kobayashi S, Imura Y, Fujita Y, Kawabata D, Usui T, Tanaka M, Nagai S, Umehara H, Mimori T (2006) Anti-aminoacyl-tRNA synthetase antibodies in clinical course prediction of interstitial lung disease complicated with idiopathic inflammatory myopathies. *Autoimmunity* 39:233-241
8. Sato S, Kuwana M, Hirakata M (2007) Clinical characteristics of Japanese patients with anti-OJ (anti-isoleucyl-tRNA synthetase) autoantibodies. *Rheumatology (Oxford)*46(5):842-845
9. Meyer W, Scheper T, Janssen A, Torkler S, Schlumberger W, Stöcker W. (2007) „EUROLINE Myositis-Profil“: Ein neu entwickelter Linienblot zum Nachweis Myositis-assoziiierter Autoantikörper. *Z Rheumatol* 66:98
10. Mimori T, Imura Y, Nakashima R, Yoshifuji H (2007) Autoantibodies in idiopathic inflammatory myopathy: An update on clinical and pathophysiological significance. *Curr Opin Rheumatol* 19:523-529
11. Targoff IN (2008) Autoantibodies and their significance in myositis. *Curr Rheumatol Rep* Aug;10(4):333-340
12. Hanke K, Brückner C, Dähnrich C, Huscher D, Komorowski L, Meyer W, Janssen A, Backhaus M, Becker M, Kill A, Egerer K, Burmester G, Hiepe F, Schlumberger W, Riemekasten G (2009) Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients. *Arthritis Research & Therapy* 11:R22
13. Gunawardena H, Betteridge ZE, McHugh NJ (2009) Myositis-specific autoantibodies: their clinical and pathogenic significance in disease expression. *Rheumatology (Oxford)* Jun;48(6):607-612

PBC-assoziierte antinukleäre Autoantikörper

Synonym(e)

PBC-assoziierte ANA, PBCNA

Englischer Begriff

Autoantibodies to PBC associated anti-nuclear autoantibodies, in the broader sense autoantibodies to nuclear pore complex, SS-A and centromeres

Definition

Primär-biliäre Lebercirrhose-assoziierte antinukleäre Antikörper, nicht zu verwechseln mit Autoantikörper gegen PCNA (proliferating cell's nuclear antigen), siehe dort. Bei der Primär-biliären Lebercirrhose (PBC) kann man im Serum der Patienten verschiedene Autoantikörper finden, teilweise von pathognomonischer Bedeutung. Im Vordergrund stehen Autoantikörper gegen Mitochondrien (AMA) (siehe dort), daneben ist aber auch eine Reihe verschiedener Zellkern-Antigene Ziel der Autoaggression bei PBC:

1. Nuclear Dots, PML-NB (Promyelocytenleukämie nuclear bodies), PML-Nuclear Dots und Nuclear domain 10 (ND10). Dabei handelt es sich um hochmolekulare, Kernmatrix-gebundene Multiprotein-Komplexe aus mindestens vier autoantigenen Komponenten – den Proteinen Sp100 (speckled protein 100 kDa), PML (48-97 kDa), SUMO-1 und SUMO-2 (small ubiquitin-related modifiers, je ca. 11 kDa). Die Antigene Sp 100 und PML wurden zuerst in den Tumorzellen von Patienten mit akuter Promyelocyten-Leukämie gefunden. Sie kommen in verschiedenen Isoformen (Spleißvarianten) vor, beide Proteinfamilien liegen teilweise kovalent an die SUMO-Proteine gebunden vor.
2. Antigene der Kernmembran: Dazu gehören GP210 (siehe dort), p62 und Lamin-Rezeptoren.
3. Daneben gehören im weiteren Sinne auch Autoantikörper gegen SS-A und Zentromere zu den PBCNA.

Funktion

Sp100 und PML spielen eine Rolle bei der pro-apoptotischen Signalübertragung. Sie modulieren die Aktivität von Transkriptionsfaktoren, sie selbst werden durch Interferone hochreguliert. SUMO-1 und -2 sind Ubiquitin-ähnliche „Modifizier“, die durch kovalente Bindung an Proteine deren Abbau (im Gegensatz zu Ubiquitinen) verhindern.

GP210 und p62 sind integrale Bestandteile des Kernporenkomplexes.

Untersuchungsmaterial

Serum, Plasma

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

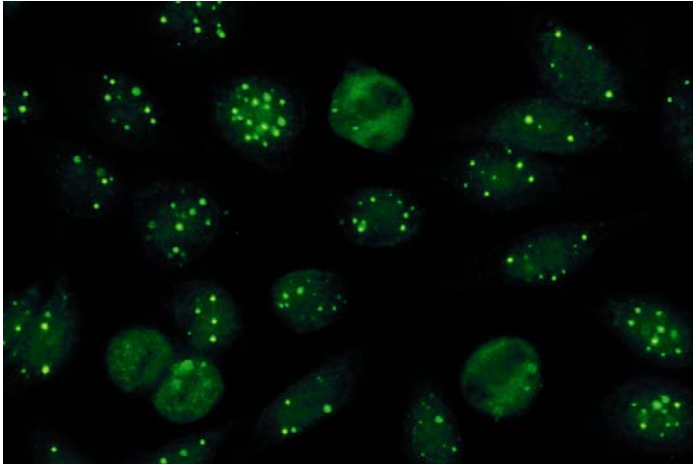
Analytik

In der Immunfluoreszenz stellen sich bei Vorliegen der Antikörper gegen Sp100, ND10, SUMO-1, SUMO-2 und PML in den Kernen der Interphase bei HEp-2-Zellen fünf bis über zwanzig unterschiedlich große splitterartige Granula dar, die quer über den Zellkern verteilt sind (Nuclear Dots). Das Cytoplasma ist dunkel, wenn nicht gleichzeitig die ebenfalls mit Primär-biliärer Lebercirrhose assoziierten Antikörper gegen Mitochondrien vorliegen. Früher wurden die Nuclear Dots fälschlicherweise als Mitochondrien-haltige Absprenge des Cytoplasma betrachtet. Bei den Mitosen sind die PML-Nuclear Dots aufgelöst, außerhalb der (nicht reagierenden) Chromosomen fluoreszieren nur vereinzelte Granula.

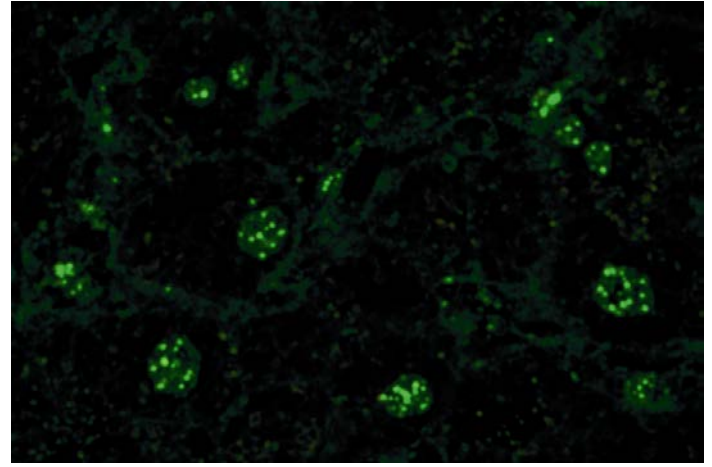
Antikörper gegen PML-Nuclear Dots reagieren mit Primatenleber mindestens ebenso stark wie mit HEp-2-Zellen. Man kann sie bei paralleler Verwendung beider Substrate auch dann identifizieren, wenn gleichzeitig Antikörper gegen Zentromere vorliegen, was bei PBC häufig vorkommt: Dann fallen die Nuclear Dots der HEp-2-Zellen zwar nicht mehr auf, aber in den Zellkernen der Hepatocyten sind sie zu sehen, wo Antikörper gegen Zentromere 10fach schwächer fluoreszieren. Mit Rattengewebe sind Antikörper gegen Sp100 gewöhnlich nicht oder mit zu geringer Sensitivität nachweisbar, humane Autoantikörper gegen PML, SUMO-1 und SUMO-2 reagieren dagegen zum Teil auch mit Rattengewebe.

Die Serum wird initial parallel in den Verdünnungen 1:100 und 1:1.000 angesetzt, weil die Antikörper (besonders gegen Zentromere) oft erst bei höherer Verdünnung sichtbar werden. Man untersucht vorwiegend Antikörper der Immunglobulinklasse IgG.

Sp100 und PML sind exakt ko-lokalisiert: Will man die entsprechenden Antikörper differenzieren, muss man ELISA oder verschiedene Blottechniken einsetzen, unter Verwendung aus Zellkulturen gewonnener, ggf. rekombinant hergestellter Sp100-Antigene oder relevanter Teilabschnitte.



**Abb. 95 Autoantikörper gegen Nuclear Dots.
Substrat HEp-2-Zellen.**



**Abb. 96 Autoantikörper gegen Nuclear Dots.
Substrat Primatenleber.**

Referenzbereich — Frauen

Negativ

Referenzbereich — Männer

Negativ

Referenzbereich — Kinder

Negativ

Indikation

Verdacht auf Primär-biliäre Lebercirrhose.

Diagnostische Wertigkeit

Autoantikörper gegen Nuclear Dots werden bei 10-30 % der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose gefunden (nach Zuchner et al. bei 26 %: Anti-Sp100 allein 6 %, Anti-PML allein 5 %, beide zusammen 15 %). Antikörper gegen SUMO-1 treten bei 4 % und gegen SUMO-2 bei 11 % der PBC-Patienten auf, und immer nur zusammen mit Anti-Sp100 und/oder Anti-PML.

Autoantikörper gegen GP210 kommen bei 26 % der Patienten mit Primär-biliärer Lebercirrhose (PBC) vor, sie weisen auf einen schweren Krankheitsverlauf hin, ebenso Autoantikörper gegen SS-A. Liegen zusätzlich bei PBC Autoantikörper gegen Zentromere vor, besteht oft eine portale Hypertension. Anti-GP210-Antikörper werden vereinzelt auch bei Autoimmunhepatitis oder Hepatitis B und C beobachtet.

Die gemeinsame Bestimmung der Autoantikörper gegen PML, SP100, GP210, AMA-M2 und M2-3E erhöht die diagnostische Sensitivität für PBC von 75 % (AMA, untersucht mit Rattenniere) auf über 95 %.

Autoantikörper bei Primär-biliärer Lebercirrhose	
Antigen	Prävalenz in %
Sp100	21
PML	19
Sp100 allein	6
PML allein	5
Sp100 und PML	15
Sp100 und/oder PML	25
SUMO-1	15
SUMO-2	42
GP210	25-40
P62	23-32
Lamin-B-Rezeptoren	1-3
AMA M2 – Rattenniere	75
AMA M2 – Vollantigen (BPO)	90-98

Literatur

1. Szostecki C, Krippner H, Penner E, Bautz FA (1987) Autoimmune sera recognize a 100 kDa nuclear protein antigen (Sp100). *Clin Exp Immunol* 68(1):108-116
2. Züchner D, Sternsdorf T, Szostecki C, Heathcote JE, Cauch-Dudek K, Will H (1997) Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 26(5):1123-1130
3. Courvalin JC, Worman HJ (1997) Nuclear envelope protein autoantibodies in primary biliary cirrhosis. Review. *Semin Liver Dis* 17(1):79-90
4. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassini F, Bianchi G, Lenzi M, Rodrigo L, Linares A, Fuentes D, Bianchi FB (2003) Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98(2):431-437
5. Wichmann I, Montes-Cano MA, Respaldiza N, Alvarez A, Walter K, Franco E, Sanchez-Roman J, Nunez-Roldan A (2003) Clinical significance of anti-multiple nuclear dots/Sp100 autoantibodies. *Scand J Gastroenterol* 38(9):996-999
6. Janka C, Selmi C, Gershwin ME, Will H, Sternsdorf T (2005) Small ubiquitin-related modifiers: A novel and independent class of autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* Mar 41(3):609-616

Radioimmunoassay

Synonym(e)

RIA

Englischer Begriff

Radioimmunoassay

Definition

Test zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Antigenen oder Antikörpern, bei dem radioaktiv markierte Isotope (β -Strahler: ^3H , ^{14}C und ^{35}S , γ -Strahler: vorwiegend ^{125}I) zur Markierung eines der beiden Reaktionspartner verwendet werden.

Physikalisch-chemisches Prinzip

Es werden zwei Ausführungsvarianten unterschieden: Der klassische RIA zeigt einen kompetitiven und der Immunradiometrische Assay (IRMA) einen nichtkompetitiven Testaufbau.

Beim klassischen RIA nach Yalow und Berson konkurrieren eine definierte Menge radioaktiv markierten Antigens (Tracer) und das gesuchte Antigen um eine definierte, begrenzte Anzahl Antikörperbindungsstellen. Je mehr Antigen die Probe enthält, umso weniger Tracer wird gebunden.

Beim IRMA wird das gesuchte Antigen unter Verwendung eines nicht markierten Fängerantikörpers und eines radioaktiv markierten Nachweisantikörpers (Antikörpertracer) dargestellt. Nach Entfernung der freien Reaktionspartner wird die im Immunkomplex enthaltene Radioaktivität gemessen, sie ist hier direkt proportional zur Antigenkonzentration in der untersuchten Probe.

Der IRMA wird entweder als Festphasen-Test (Solid-Phase-Technik) oder als Flüssigphasen-Test ausgelegt: Beim Festphasen-Test wird der Fängerantikörper vor der Reaktion z. B. an einer Röhrenwand oder einer Kugel immobilisiert, an die sich das gesuchte Antigen und der gegen dieses Antigen gerichtete Nachweisantikörper (Antikörpertracer) nacheinander binden. Ungebundene Komponenten werden gewaschen, und am Ende wird die Radioaktivität der festen Phase im γ -Zähler gemessen. Beim Flüssigphasen-Test wird der Immunkomplex aus markierten Antikörpern und gesuchtem Antigen durch sogenannte Brückenantikörper ausgefällt, wobei Polyethylenglykol (PEG) als Reaktionsbeschleuniger wirkt. Nach einem Zentrifugationsschritt wird die Radioaktivität des Sediments gemessen.

Instrumentalisierung

RIA werden vorwiegend manuell durchgeführt. Die Messung der Radioaktivität erfolgt in β - und γ -Zählern. Während γ -strahlende Isotope direkt gemessen werden können, ist zur Erfassung der β -Strahlung aufgrund ihrer Reichweite von nur wenigen Millimetern eine Vermischung der radionuklidhaltigen Probe mit einem Szintillationscocktail erforderlich (organische Flüssigkeit, die Szintillatoren enthält).

Sensitivität

Radioimmunoassays sind außerordentlich empfindlich, ihre analytische Sensitivität liegt bei 10^{-16} bis 10^{-18} mol/l.

Praktikabilität/Automatisierung/Kosten

Zu den Vorteilen der Radioimmuntests zählen vor allem die niedrigen Nachweisgrenzen für γ -(^{125}I) und β -(^3H , ^{14}C , ^{35}S)-Strahler und die konzeptionelle Einfachheit der Systeme. Die radioaktive Markierung ist in den meisten Fällen ohne großen Aufwand möglich. Zu Lasten des RIA gehen die Entsorgungskosten und die zu treffenden Maßnahmen für den Strahlenschutz. Ferner kann die energiereiche radioaktive Strahlung auf die beteiligten Reagenzien selbst zerstörend wirken und die Messung verfälschen.

Die Halbwertszeit, d. h. der Zeitraum, in dem die Hälfte der ursprünglichen radioaktiven Teilchen zerfallen ist, liegt für ^{125}I bei 60 Tagen, für ^3H bei 12 Jahren und für ^{14}C bei 5736 Jahren. Die geringe Halbwertszeit begrenzt die Lagerungsfähigkeit der ^{125}I -RIAs, auf der anderen Seite ist die Beseitigung ^{125}I -haltigen Abfalls einfacher als bei anderen Radionukliden: Man wartet ab, bis die Radioaktivität unter einen Schwellenwert abgeklungen ist.

Radioimmunoassays werden im allgemeinen als umweltfreundlich eingestuft und aus dem Verkehr gezogen - völlig zu Unrecht: Sofern mit ^{125}I gearbeitet wird, stellen die Abfallprodukte nach ausreichender Lagerzeit nicht die geringste Belastung dar, was man von den verbrauchten hochgiftigen Substratlösungen, die bei ELISA- und Blot-Techniken anfallen, nicht behaupten kann.

Literatur

Yalow RS, Berson SA (1959) Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. Nature 184 (Suppl. 21):1648-1649.

Rheumafaktoren

Synonym(e)

RF

Englischer Begriff

Rheumatoid factors

Definition

Rheumafaktoren sind Antikörper, die mit den körpereigenen Immunglobulinen des Patienten reagieren.

Funktion und Pathophysiologie

Immunglobuline der Klasse G (IgG) werden durch Konformationsänderungen, z. B. infolge anomaler Glykosylierung, selbst zu Antigenen. Die am häufigsten von den Rheumafaktoren erkannten Epitope liegen im Bereich der Domänen CH2 und CH3 des Fc-Fragments von IgG. Andere RF reagieren mit Fab-Fragmenten oder mit Immunglobulinen, die mit Pepsin angedaut wurden. Die RF können den Klassen IgM, IgG, IgA oder IgE zugehören.

IgM-RF werden am häufigsten bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis (RA) gefunden. Die RF sind nicht pathognomonisch für RA. Sie kommen auch bei anderen entzündlichen Bindegewebserkrankungen vor, wie z. B. beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) und dem Sjögren-Syndrom, sowie bei einigen Infektionskrankheiten wie Röteln, Lepra und Malaria.

Analytik

Rheumafaktoren lassen sich durch ELISA, Nephelometrie oder Agglutinationstest mit Schafserythrocyten oder Latexpartikeln bestimmen. Mittels ELISA lassen sich Rheumafaktoren der Klassen IgM, IgA und IgG differenzieren.

Untersuchungsmaterial

Serum

Probenstabilität

Autoantikörper sind bei +4 °C bis zu vier Wochen lang beständig, bei -20 °C über Monate und Jahre hinweg. Zur Tiefkühl-Konservierung des IgM kann man den Proben 80 % gepuffertes Glycerin beifügen.

Diagnostische Wertigkeit

Der Nachweis der Rheumafaktoren hat den größten Wert für die Diagnose der Rheumatoider Arthritis (RA), wobei überwiegend die Bestimmung der IgM-Isotypen erfolgt. Obwohl Rheumafaktoren nicht auf die RA begrenzt sind, stützt ihr Vorkommen bei einem Patienten die Diagnose der RA, insbesondere wenn sie hochtitrig sind. RF werden meist gemeinsam mit Antikörpern gegen CCP bestimmt, welche man nahezu ausschließlich bei RA findet. Beide Parameter können sich daher in gewisser Weise ergänzen. Im Vergleich zu den Antikörpern gegen CCP besitzen Rheumafaktoren bei gleicher Sensitivität (80 %) allerdings eine geringere Spezifität (62 % vs. 97 %) für die RA. Darüber hinaus spricht ein positiver RF-Befund für eine schlechte Prognose mit Gelenkdestruktionen.

Kreuzverweis(e)

Autoantikörper gegen citrullinierte Peptide (CCP)

Literatur

1. Jonsson T, Steinsson K, Jonsson H, Gerisson AJ, Thorsteinsson J, Valdimarsson H (1998) combined elevation of IgM and IgA rheumatoid factor has a high diagnostic specificity for rheumatoid arthritis. *Rheum Int* 18:119-122
2. Nakamura RM (2000) Progress in the use of biochemical and biological markers for evaluation of rheumatoid arthritis. *J Clin Lab Anal* 14:305-313
3. Bas S, Genevay S, Meyer O, Gabay C (2003) Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 42:677-680