

Z Rheumatol 2006 · 65:709–724
 DOI 10.1007/s00393-006-0125-5
 Online publiziert: 22. November 2006
 © Springer Medizin Verlag 2006

Redaktion

U. Müller-Ladner, Bad Nauheim (Leitung)
 E. Genth, Aachen
 G. Schett, Erlangen
 H. Stürz, Giessen



CME.springer.de Zertifizierte Fortbildung für Kliniker und niedergelassene Ärzte

Die CME-Teilnahme an diesem Fortbildungsbeitrag erfolgt online auf CME.springer.de und ist Bestandteil des Individualabonnements dieser Zeitschrift. Abonnenten können somit ohne zusätzliche Kosten teilnehmen.

Unabhängig von einem Zeitschriftenabonnement ermöglichen Ihnen CME.Tickets die Teilnahme an allen CME-Beiträgen auf CME.springer.de. Weitere Informationen zu CME.Tickets finden Sie auf CME.springer.de.

Registrierung/Anmeldung

Haben Sie sich bereits mit Ihrer Abonnementnummer bei CME.springer.de registriert? Dann genügt zur Anmeldung und Teilnahme die Angabe Ihrer persönlichen Zugangsdaten. Zur erstmaligen Registrierung folgen Sie bitte den Hinweisen auf CME.springer.de.

Online teilnehmen und 3 CME-Punkte sammeln

Die CME-Teilnahme ist nur online möglich. Nach erfolgreicher Beantwortung von mindestens 7 der 10 CME-Fragen senden wir Ihnen umgehend eine Bestätigung der Teilnahme und der 3 CME-Punkte per E-Mail zu.

Zertifizierte Qualität

Diese Fortbildungseinheit ist zertifiziert von der Landesärztekammer Hessen und der Nordrheinischen Akademie für Ärztliche Fort- und Weiterbildung und damit auch für andere Ärztekammern anerkennungsfähig. Folgende Maßnahmen dienen der Qualitätssicherung aller Fortbildungseinheiten auf CME.springer.de: Langfristige Themenplanung durch erfahrene Herausgeber, renommierte Autoren, unabhängiger Begutachtungsprozess, Erstellung der CME-Fragen nach Empfehlung des IMPP mit Vorabtestung durch ein ausgewähltes Board von Fachärzten.

Für Fragen und Anmerkungen stehen wir Ihnen jederzeit zur Verfügung:

Springer Medizin Verlag GmbH
Fachzeitschriften Medizin/Psychologie
CME-Helpdesk, Tiergartenstraße 17
69121 Heidelberg
E-Mail: cme@springer.com
CME.springer.de

K. Hartung¹ · H.-P. Seelig²

¹ Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Klinikum

Bremerhaven Reinkenheide, Bremerhaven

² Labor Prof. Seelig und Kollegen, Karlsruhe

Labordiagnostik der systemischen Autoimmunerkrankungen

Teil I: Kollagenosen

Zusammenfassung

Dieser erste Teil einer Serie zur Labordiagnostik von rheumatischen Erkrankungen behandelt die systemischen Autoimmunerkrankungen Lupus erythematoses, Sjögren-Syndrom, Sklerodermie, Dermato-/Polymyositis und die Mischkollagenose (MCTD, SHARP-Syndrom).

Grundstein der Diagnostik ist der Nachweis antinukleärer Antikörper (ANA) zunächst im Screening-Test, dem eine Differenzierung der Autoantikörperspezifitäten folgt, welche entscheidende Hinweise zur Diagnose liefern können.

Verlaufskontrollen der Krankheitsaktivität können z. T. durch Bestimmung von Titerverläufen der Antikörper sowie durch Monitoring des Komplementumsatzes vorgenommen werden.

Schlüsselwörter

Autoimmunerkrankung · Kollagenose · Diagnose · Autoantikörper · ANA · Komplement

Laboratory diagnostics of systemic autoimmune diseases. Part 1. Collagenoses

Abstract

This is the first part of a series of articles on the laboratory diagnostics of rheumatic diseases and will consider the systemic autoimmune diseases lupus erythematosus, Sjögren's syndrome, systemic sclerosis, dermatomyositis and mixed connective tissue disease (MCTD, SHARP syndrome).

The basis for diagnostics is the presence of antinuclear antibodies (ANA). Initially, these antibodies are detected using a screening test. This must be followed by the identification of the patient's individual autoantibody specificities, which then yields important diagnostic clues.

Disease activity may be monitored serologically by following the titers of selected autoantibodies and, in certain patients, by examining complement consumption.

Keywords

Autoimmune disease · Diagnosis · Autoantibodies · ANA · Complement

Für eine aussagekräftige Diagnostik sind wenige Untersuchungen ausreichend

► **Kollagenose**

► **Immunfluoreszenztest**

► **Fluoreszenzmuster**

ANA finden sich in >95% bei systemischen entzündlichen rheumatischen Erkrankungen

Ein positiver ANA-Test ist für den SLE nicht spezifisch

► **Autoimmunprozess**

► **Prätestwahrscheinlichkeit**

Die visuell auszuwertenden Resultate des ANA-IIFT unterliegen subjektiven Einflüssen

Der Hauptanteil der speziellen labormedizinischen Untersuchungen bei den autoimmunen rheumatischen Erkrankungen betrifft den Nachweis krankheitsassoziierter Autoantikörper, von denen einige ungeachtet ihrer meist unbekannteren pathogenetischen Bedeutung wichtige diagnostische und prognostische Marker darstellen [13]. Trotz der Vielzahl der bei diesen Krankheiten auftretenden Autoantikörper – allein beim systemischen Lupus erythematoses (SLE) sind es nahezu 150 – genügen für eine aussagekräftige Diagnostik nur wenige Untersuchungen, mit denen sich der klinische Verdacht erhärten oder die Erkrankung ausschließen lässt (■ **Tab. 1**; [2, 8, 12]).

Der relevante Screening-Test bei der Fragestellung ► **Kollagenose** ist die Bestimmung der antinukleären Antikörper (ANA), der bei Verdacht auf Polymyositis oder Dermatomyositis um eine Untersuchung auf Antikörper gegen tRNA-Synthetasen (anti-Jo-1), Mi-2 und den Signalerkennungspartikel (SRP) erweitert werden kann.

Der Bestätigung einer rheumatoiden Arthritis (in Teil 2 behandelt) dient die Bestimmung des Rheumafaktors (RF), der künftig durch den Nachweis der Antikörper gegen zyklische citrullinierte Peptide ergänzt oder abgelöst werden könnte.

Bei Verdacht auf autoimmune systemische Vaskulitiden erfolgt die Bestimmung der Antikörper gegen zytoplasmatische Antigene der neutrophilen Granulozyten (ANCA) und bei dem Verdacht auf ein primäres oder sekundäres Antiphospholipidsyndrom der Nachweis des Lupusantikoagulans und/oder der Autoantikörper gegen Cardiolipin bzw. β_2 -Glykoprotein I.

ANA-Screening

Unter dem Sammelbegriff antinukleäre Antikörper (ANA) werden alle Antikörper zusammengefasst, die mit nicht gewebespezifischen Zellkernantigenen reagieren.

Im engeren Sinne versteht man darunter Antikörper, die im indirekten ► **Immunfluoreszenztest** (IIFT) mit humanen Kulturzellpräparaten (HEp-2-Zellen) eine mikroskopisch nachweisbare Zellkernfluoreszenz hervorrufen (■ **Abb. 1a–d**). Sie richten sich gegen Bausteine des Chromatins und gegen Komponenten der intranukleären Maschinerie der Generierung, DNA-Replikation und -Transkription sowie der RNA-Verarbeitung. Das von ihnen hervorgerufene ► **Fluoreszenzmuster** (■ **Tab. 2**) kann auf ihre Antigenspezifität wie Doppelstrang-DNA, Ribonukleoproteine (Sm, U1-snRNP, U1-70K, SS-A/Ro, SS-B/La), Zentromere oder Enzyme wie Topoisomerase I und RNA-Polymerasen hinweisen.

ANA finden sich mit großer Regelmäßigkeit (>95%) bei systemischen entzündlichen rheumatischen Erkrankungen, sodass die ANA selbst bzw. bestimmte ANA-Spezifitäten in die ACR-Klassifikationskriterien des SLE, der Mischkollagenose und des Sjögren-Syndroms aufgenommen wurden. Ein negativer ANA-IIFT schließt daher eine solche Erkrankung, insbesondere den SLE, in aller Regel aus [negativer prädiktiver Wert (PW_{neg}) nahezu 100%].

Der meist auf methodische Mängel zurückzuführende so genannte ANA-negative SLE ist sehr selten. Umgekehrt aber ist ein positiver ANA-Test für den SLE nicht spezifisch (PW_{pos} für den SLE bezogen auf die Gesamtbevölkerung: 0,15%), d. h. nur jeder Sechshundertste mit einem positiven Test ist an einem SLE erkrankt.

ANA werden bei einer Vielzahl anderer Erkrankungen, bei Infektionserkrankungen und gehäuft bei Gesunden jenseits des 60. Lebensjahres (Männer bis 15%, Frauen bis 30%) angetroffen. Bei einem positiven ANA-IIFT besteht somit nur ein eingeschränkter Verdacht auf eine Autoimmunerkrankung oder einen subklinischen ► **Autoimmunprozess**.

Schon im Vorfeld muss differenzialdiagnostisch eine hohe ► **Prätestwahrscheinlichkeit** für die Erkrankung erreicht werden, um die prädiktiven Werte der Tests zu verbessern. Niedrigtitrige ANA (bis 1:160) sind oftmals unspezifisch und von geringer diagnostischer Bedeutung. Für die diagnostische Beurteilung eines positiven ANA-Tests sollten die Immunglobulinklasse der Antikörper (Isotyp), ihre Konzentration (Antikörpertiter) und das Fluoreszenzmuster bekannt sein. Die mit Kollagenosen assoziierten ANA gehören in der Regel dem Isotyp IgG an und liegen in hohen Konzentrationen vor.

Die visuell auszuwertenden Resultate des ANA-IIFT unterliegen subjektiven Einflüssen, was von Labor zu Labor zu teils erheblich divergierenden Ergebnissen führen kann. Man ist daher versucht, den ANA-IIFT durch automatisierbare und weniger subjektive Testverfahren (z. B. Enzymimmunoassay) zu ersetzen. Als Zielantigene werden hierfür Zellkernextrakte, native oder rekombinante Proteine eingesetzt. Mit solchen Assays lassen sich nur diejenigen Antikörper nachweisen, deren

Zielantigene in dem Testsystem ausreichend repräsentiert werden, d. h. für einen dem IIFT entsprechenden Screening-Test muss eine große Zahl von Antigenen eingesetzt werden. Da nicht alle Antigene verfügbar sind und da das Trägermaterial nur eine beschränkte Zahl von Antigenen in ausreichender Konzentration binden kann, lassen sich mit solchen Verfahren noch keine dem IIFT vergleichbaren Resultate erzielen, sodass der Immunfluoreszenztest derzeit noch als Goldstandard angesehen wird [13].

Problematisch sind ANA-ELISAs (und ähnliche Immunoassays) vor allem dann, wenn Seren untersucht werden, die Antikörper gegen noch unbekannte Zellkernantigene enthalten, wie z. B. bei Patienten mit autoimmunen Hepatitiden. Auch das Hauptziel des ANA-IIFT, eine Kollagenose auszuschließen, wird bei Untersuchungen mit einem begrenzten Antigenespektrum verfehlt, da ein negatives Resultat einen SLE nicht ausschließt. Auf der anderen Seite kann man argumentieren, dass sich durch den Einsatz eines ausgewählten Spektrums relevanter Markerantigene der positive prädiktive Wert der Untersuchung steigern lässt. Prinzipiell ist nichts gegen Assays mit einem umschriebenen relevanten **▶ Antigenespektrum** einzuwenden, wenn der behandelnde Arzt auf die differenzialdiagnostischen Unterschiede eines ANA-IIFT und ANA-ELISA hingewiesen wird.

Schwierig zu interpretieren und zu vermitteln sind positive Antikörperbefunde bei fehlender klinischer Symptomatik. Groß ist die Verunsicherung dann, wenn es sich auch noch um hochtitrige ANA mit ungewöhnlichen Antigenespezifitäten handelt und krankheitsspezifische Markerantikörper fehlen. Dass ANA bereits Jahre vor dem Ausbruch eines SLE auftreten können [1], darf nicht darüber hinwegtäuschen, dass ein positiver Test bei klinisch unauffälligen Personen wenig über die mögliche Entwicklung einer Kollagenose aussagt.

Ein positiver ANA-IIFT ist allein noch nicht richtungweisend für die Diagnose einer entzündlichen rheumatischen Erkrankung. Weiterführende Untersuchungen unter Berücksichtigung von klinischer Symptomatik, Antikörpertiter, Antikörperisotyp und Fluoreszenzmuster ermöglichen jedoch diagnostisch relevante Aussagen. Die wichtigsten Markerantikörper bei SLE, Sjögren-Syndrom, Sklerodermie, Polymyositis und Mischkollagenose werden im Folgenden erörtert.

Autoantikörper beim SLE und kutanen Lupus erythematodes

Der SLE ist durch eine besondere Vielfalt an möglichen Autoantikörperprofilen gekennzeichnet, wobei den SLE-spezifischen Antikörpern gegen Doppelstrang-DNS, Sm und Nukleosomen, weniger gegen PCNA und ribosomale Proteine, eine besondere diagnostische Bedeutung zukommt.

Doppelstrang-DNA-Antikörper

Antikörper gegen Doppelstrang-DNA (ds-DNA) sind die wichtigsten und häufigsten Markerantikörper und als solche auch ein Bestandteil der ACR-Klassifikationskriterien des SLE. Der Begriff DNA-Antikörper umfasst allerdings eine sehr heterogene Gruppe von Antikörpern:

1. Antikörper gegen ds-DNA, die nur mit natürlicher DNA in Helixkonformation und nicht mit denaturierter DNA (ss-DNA) reagieren.
2. Antikörper gegen ds-DNA, die sowohl mit natürlicher DNA als auch mit denaturierter DNA reagieren.
3. Antikörper gegen Einzelstrang-DNA (ss-DNA), die sich gegen die Purin- und Pyrimidinbasen richten.

Für den SLE spezifisch sind nur die gegen die ds-DNA gerichteten Antikörper (■ **Abb. 1a**). Ihre Prävalenz beträgt beim aktiven SLE mit Nierenbeteiligung etwa 90%, beim aktiven SLE ohne Nierenbeteiligung liegt sie zwischen 50 und 70%, beim inaktiven SLE unter 40% und bei gesunden Personen unter 0,1%. Hochavide ds-DNA-Antikörper der Immunglobulinklasse IgG bei noch asymptomatischen Personen gelten als besonderer Risikofaktor für die Entwicklung des SLE.

Ein negatives Ergebnis einer Untersuchung auf ds-DNA-Antikörper schließt einen SLE allerdings nicht aus, insbesondere dann nicht, wenn im ANA-Test andere hochtitrige Antikörper gegen Zellkerne nachgewiesen werden. Es ist möglich, dass DNA-Antikörper zu einem späteren Zeitpunkt im Krankheitsverlauf auftreten.

Hinweisend auf ds-DNA-Antikörper ist eine homogene Fluoreszenz der Interphasekerne und der in der Mitoseplatte kondensierten Chromosomen beim IIFT. In diesem Falle sollte bei einem ANA-

▶ Antigenespektrum

Schwierig zu interpretieren sind positive Antikörperbefunde bei fehlender klinischer Symptomatik

Der SLE ist durch eine besondere Vielfalt an möglichen Autoantikörperprofilen gekennzeichnet

Es ist möglich, dass DNA-Antikörper zu einem späteren Zeitpunkt im Krankheitsverlauf auftreten

Tab. 1 „Markerantikörper“ bei rheumatischen Erkrankungen

Krankheitsbilder	Autoantikörper gegen
Systemischer Lupus erythematodes (SLE)	ANA (*)
	ds-DNA (**)
	Sm (**)
	Nukleosomen (+)
	Ribosomen (P-Proteine)
	SS-A/Ro
	SS-B/La
Medikamenteninduzierter LE	Histone
Primäres Sjögren-Syndrom	ANA
	SS-A/Ro/Anti-SS-B/La (*)
Systemische Sklerose	ANA
	Zentromeren
	Topoisomerase I (Scl-70)
	RNA-Polymerasen I, II, III
Polymyositis-Overlap	PM-Scl
Polymyositis/Dermatomyositis	ANA
	Mi-2
	tRNA-Synthetasen (Jo-1)
	Signalerkennungspartikel (SRP)
Sklerodermie-Overlap	PM-Scl
Mischkollagenose (Sharp Syndrom, MCTD)	ANA
	U1-snRNP/U1-70K (*)
Primäres und sekundäres Antiphospholipidsyndrom	Lupusantikoagulans (*)
	Cardiolipin (*)
	β ₂ -Glykoprotein 1
Rheumatoide Arthritis	Anti-zyklisches citrulliniertes Peptid (CCP)
	Rheumafaktor (*)
Systemische Vaskulitiden	Anti-Neutrophilen-Zytoplasma (ANCA) (+)
	PR3-ANCA (Anti-Proteinase 3) (+)
	MPO-ANCA (Anti-Myeloperoxidase) (+)

Die () gekennzeichneten Autoantikörper sind Bestandteil der Klassifikationskriterien (z. B. ACR-Kriterien), die mit (+) gekennzeichneten Antikörper können zur Überwachung der Krankheitsaktivität und der Therapie herangezogen werden.*

Titer ab 1:160 immer die Bestimmung von ds-DNA-Antikörpern veranlasst werden. Ein negativer ANA-Screening-Test schließt ds-DNA-Antikörper mit großer Sicherheit aus. Für die Bestimmung der ds-DNA-Antikörper werden heute vor allem der Crithidien-Test und ELISAs eingesetzt.

Der mit radioaktiver DNA arbeitende, sehr spezifische ► **Farr-Assay** wird nur noch in wenigen Laboratorien durchgeführt. Mit dem Farr-Assay werden in der Regel ds-DNA-Antikörper bei anderen rheumatischen Erkrankungen nicht nachgewiesen. Mit ► **ELISAs** hingegen, die zwar auch eine hohe Sensitivität aber geringere Spezifität aufweisen, lassen sich positive Ergebnisse auch bei anderen Erkrankungen finden (Sjögren-Syndrom, Sklerodermie, rheumatoide und juvenile idiopathische Arthritis, Myasthenia gravis, autoimmune Hepatitis, arzneimittelinduzierte LE-ähnliche Syndrome, verschiedene Infektionskrankheiten).

Der IIFT mit *Crithidia luciliae*, deren Kinetoplast reine doppelsträngige, mikrozirkuläre DNA enthält (CLIFT-Assay), besitzt eine hohe Spezifität, jedoch nur eine relativ geringe Sensitivität. Für das Monitoring der Krankheitsaktivität ist er schlecht geeignet, da nur ein 4-facher Titeranstieg (d. h. 400%) als signifikant unterschiedlich angesehen werden kann.

Nukleosomenantikörper (Chromatinantikörper)

Unter dem Begriff Nukleosomenantikörper werden ebenfalls heterogene Antikörperpopulationen zusammengefasst, die gegen verschiedene antigene Epitope der Nukleosomen gerichtet sind. Nukle-

► Farr-Assay

► ELISA

Nukleosomenantikörper umfassen heterogene Antikörperpopulationen, die gegen verschiedene antigene Epitope der Nukleosomen gerichtet sind

osomen enthalten je ein Paar der ► **Histone** H₂A, H₂B, H₃ und H₄, um die sich ein 146 Basen langer ds-DNA-Strang windet. Benachbarte Nukleosomen werden durch das Histon H₁ verknüpft. Antikörper gegen Nukleosomen können entweder mit quaternären spezifischen Epitopen der Nukleosomen (Bona-fide: Nukleosomenantikörper; extrem schwer nachweisbar), den DNA-Epitopen (z. B. ds-DNA-Antikörper) oder den Histonepitopen (Histonantikörper) des Nukleosomenkomplexes reagieren. Spezifische Nukleosomenantikörper richten sich ausschließlich oder vorwiegend gegen die aus Histonen und DNA gebildeten neuen Epitope und besitzen eine nur minimale Affinität zu den Einzelkomponenten, wie DNA oder Histonen.

Im IIFT-ANA zeigen die Antikörper das gleiche homogene Muster wie ds-DNA-Antikörper. Zum Nachweis werden Enzymimmunoassays oder Dot-/Line-Immunoassays, meist mit Mono-Nukleosomen, verwendet, mit denen in der Regel nicht nur Nukleosomen-spezifische, sondern auch Histon- und ds-DNA-Antikörper erfasst werden.

Nukleosomenantikörper können für die Frühdiagnose des SLE relevant werden, da sie bereits vor den ds-DNA- und Histonantikörpern auftreten können. Im aktiven Stadium des SLE beträgt ihre Prävalenz bis zu 100%, im inaktiven um 60%. Die Antikörper finden sich auch bei 15–50% der Verwandten ersten Grades von SLE-Patienten sowie bei Patienten mit medikamenteninduziertem LE.

Patienten mit Antiphospholipidsyndrom und Nukleosomenantikörpern haben ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines SLE. Bezüglich der Korrelationen von Antikörperkonzentration und Krankheitsaktivität liegen noch widersprüchliche Ergebnisse vor.

Histonantikörper

Histonantikörper können, je nach Antigen-spezifität, mit einzelnen ► **Histonproteinen** oder mit komplexierten Histonen reagieren. Ihr Nachweis erfolgt meist mit ELISAs oder Immunoblot an isolierten Histonen oder Histon-Gemischen, womit Antikörper gegen ► **Konformationsepitope** nicht immer erfasst werden.

Antikörper gegen lineare Histonepitope finden sich bei vielen rheumatischen und nichtrheumatischen Erkrankungen wie SLE (50–80%), medikamenteninduziertem LE (90–95%), rheumatoider Arthritis (RA), rheumatischer Vaskulitis, idiopathischer juveniler Arthritis, Felty-Syndrom, Sklerodermie, primär biliärer Zirrhose, Autoimmunhepatitis, subakuter sensorischer Neuropathie, M. Alzheimer, infektiöser Mononukleose sowie auch bei gesunden Blutsverwandten von SLE-Patienten. Antikörper gegen den Histon- (H₂A-H₂B-) DNA-Komplex, d. h. eigentliche Nukleosomenantikörper, gelten als Markerantikörper für den medikamenteninduzierten LE (>95%), sofern eine entsprechende Anamnese besteht und eine idiopathische Kollagenose ausgeschlossen wurde. Da der medikamenteninduzierte Lupus sehr selten geworden ist, hat die Bestimmung von Histonantikörpern zur Zeit nur noch einen sehr eingeschränkten diagnostischen Nutzen.

Sm-Antikörper

Sm-Antikörper [benannt nach der Indexpatientin Smith; Smith-Antigen; nicht zu verwechseln (!) mit ASMA: Antikörper gegen glatte Muskulatur] zählen zu den spezifischen Markerantikörpern des SLE. Sie zeigen ebenso wie die U₁-snRNP- (U₁-70K-) Antikörper (s. unten) im ANA-IIFT ein charakteristisches mittel bis grob granuläres Fluoreszenzmuster. Eine Untersuchung auf Sm-Antikörper ist bei negativem ANA-Test daher nicht indiziert.

Die von diesen Antikörpern erfassten ► **Sm-Proteine** sind Bestandteile der spleißosomalen U₁-snRNP-Partikel. Bekannt sind 9 Sm-Proteine (B, B', N, D₁, D₂, D₃, E, F, G), von denen die Proteine B'B-, D₁ und D₃ die Hauptantigene darstellen [2, 10]. Da sich auf den B'B-Proteinen Epitope finden, die mit U₁-snRNP-spezifischen Proteinen kreuzreagieren, werden heute die SmD-Proteine als repräsentative Sm-Antigene angesehen.

Die Prävalenz der Sm-Antikörper, in der Regel mit 5–30% angegeben, wird von ethnischen und methodischen Faktoren beeinflusst. Sie liegt bei Afroamerikanern deutlich höher (30–40%) als bei Patienten der kaukasischen Rasse (<10%). Sm-Antikörper besitzen eine sehr hohe Spezifität für den SLE (>95%). Korrelationen zwischen Krankheitsaktivität und Anti-Sm-Konzentration wurden beschrieben [10], ebenso Assoziationen mit Nephritis, Serositis, Lungenfibrose, oralen Ulzera, Thrombo- und Leukozytopenien, was von anderen Untersuchern allerdings nicht bestätigt wurde [3, 6].

► Histone

Im aktiven Stadium des SLE beträgt die Prävalenz der Nukleosomenantikörper bis zu 100%

► Histonproteine

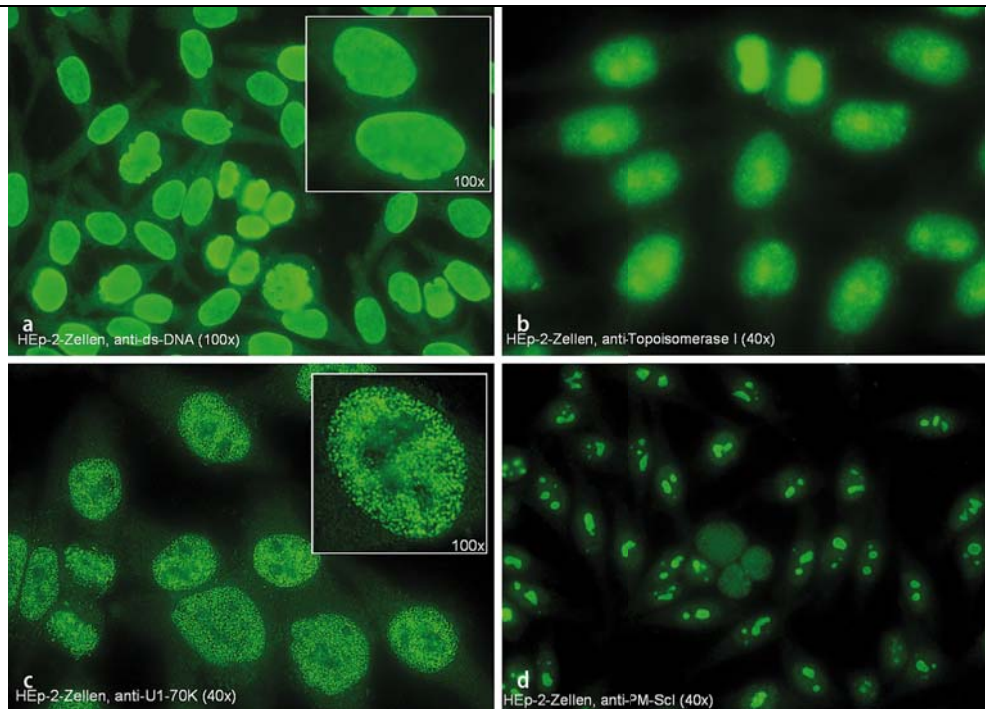
► Konformationsepitope

Antikörper gegen den Histon- (H₂A-H₂B-) DNA-Komplex gelten als Markerantikörper für den medikamenteninduzierten LE

Sm-Antikörper zählen zu den spezifischen Markerantikörpern des SLE

► Sm-Proteine

Abb. 1 ◀ ANA-Fluoreszenzmuster auf der HEP-2-Zelle. **a** ds-DNA-Antikörper. **b** Scl-70-Antikörper. **c** U1-70K-Antikörper. **d** PM-Scl-Antikörper



PCNA-Antikörper („proliferating cell nuclear antigen“)

PCNA-Antikörper kommen selten (<1%), aber sehr spezifisch nur beim SLE vor und werden durch ihr charakteristisches Immunfluoreszenzmuster erkannt – eine weitergehende klinische Bedeutung ist bisher nicht beschrieben worden.

Ribosomenantikörper

Ribosomenantikörper richten sich gegen Protein- und RNA-Epitope der großen (60 S) und kleinen (40 S) Ribosomenuntereinheiten. Von den zahlreichen bisher bekannten Antikörperspezifitäten haben vor allem die gegen die Alanin-reichen ribosomalen ▶ **Phosphoproteine** Po, P1 und P2 (anti-RPP; RPP: ribosomale Phosphoproteine) gerichteten Antikörper diagnostische Bedeutung erlangt. Sie richten sich gegen ein gemeinsames, im C-Terminus von Po, P1, und P2 gelegenes Epitop, das auch als Antigen für ihren Nachweis mittels ELISA oder Immunoblot dient. Mit Ausnahme von anti-L7 sind alle ribosomalen Antikörper hochspezifisch für den SLE (>95%). Bei Verdacht auf SLE genügt (wenn dsDNA- und Sm-Antikörper nicht nachweisbar sind) eine Untersuchung auf anti-RPP. Sensitive ELISA mit synthetischen C-terminalen ribosomalen Peptiden oder mit affinitätsgereinigten humanen P-Proteinen sind verfügbar.

Die insbesondere bei Patienten mit einer Frühmanifestation des SLE auftretenden RPP-Antikörper werden bei Angehörigen der kaukasischen Rasse in 12–20% angetroffen. Ihre Prävalenz bei Chinesen und Ostasiaten wird mit 36% angegeben. Mehrfach wurde über eine Assoziation von RPP-Antikörpern mit neuropsychiatrischen Manifestationen des SLE berichtet, was sich allerdings – ebenso wie beschriebene Assoziationen mit Hautlupus und Lupushepatitis – nie eindeutig bestätigen ließ.

Autoantikörper beim Sjögren-Syndrom

Beim Sjögren-Syndrom findet sich häufig ein Antikörper gegen ▶ **α-Fodrin** [14]. Dieser für das Sjögren-Syndrom (SS) relativ spezifische Antikörper (<5% bei anderen Kollagenosen) kommt in bis zu 80% bei Sjögren-Syndrom vor und kreuzreagiert nicht mit den unten besprochenen Antikörpern gegen SS-A/Ro und SS-B/La. Er ist somit ein möglicher weiterführender diagnostischer Marker. Bei Fodrin handelt es sich um einen ubiquitären Grundbaustein des Zytoskeletts, aus dessen α-Untereinheit bei der Apoptose ein (autoantigenes) 120 kD-Fragment abgespalten wird, das wahrscheinlich für

▶ Phosphoproteine

Anti-RPP sind spezifisch für SLE

▶ α-Fodrin

die beim Sjögren-Syndrom auftretenden Autoimmunphänomene mitverantwortlich ist. Fodrinantikörper werden beim ANA-Screening-Test nicht erfasst.

SS-A/Ro- und SS-B/La-Autoantikörper

SS-A/Ro- und SS-B/La-Autoantikörper (SS: Sjögren-Syndrom; Ro und La: Initialen von Indexpatienten) richten sich gegen Proteine von 60 kDa (Ro60), 52 kDa (Ro52) und 48 kDa (La), die mit hY-RNA (hY: „human cytoplasma“) komplexieren.

Die Namensgebung weist bereits auf ihr präferentielles Vorkommen beim Sjögren-Syndrom hin, doch sind diese Antikörper nicht krankheitsspezifisch.

Ro52 ist eine E3-Ubiquitinligase und nur schwach mit dem Partikel assoziiert, La ist ein multifunktionelles Phosphoprotein, das an der Terminierung der Transkription der RNA-Polymerase III beteiligt ist und sich daher passager an ihre hY-RNA-Transkripte anlagert. Antikörper gegen SS-B/La treten nahezu ausschließlich gemeinsam mit anti-SS-A/Ro auf, während anti-SS-A/Ro auch ohne anti-SS-B/La vorkommen. Die Antikörper zeigen im IIFT ein fein gesprenkeltes nukleäres Fluoreszenzmuster. Bei negativem ANA-IIFT besteht keine Indikation für den zusätzlichen spezifischen Nachweis von SS-A- und SS-B-Antikörpern.

Anti-SS-A/Ro und anti-SS-B/La sind Markerantikörper des primären Sjögren-Syndroms, können aber auch bei anderen Kollagenosen wie dem Lupus, insbesondere beim subakuten kutanen LE und dem neonatalen LE, sowie auch bei der RA, bei autoimmunen Myositiden und bei Komplementdefekten auftreten.

SS-A/Ro- und SS-B/La-Antikörper sind fast immer mit einem positiven Rheumafaktor und mit ► **Hypergammaglobulinämie** verbunden, vorwiegend bei Patienten mit dem HLA-Antigen DR3 (welches selbst bei SLE und Sjögren-Syndrom ein genetischer Prädispositionsfaktor ist [2, 3]).

Niedrigtitrige SS-A/Ro-Antikörper bei Gesunden lassen sich bei normalen Immunglobulinwerten und negativem Rheumafaktor als wahrscheinlich unspezifisch einordnen. Im Folgenden werden die wichtigsten Krankheitsbilder, bei denen Ro/La-Antikörper auftreten, einzeln abgehandelt.

Sjögren-Syndrom. Die Prävalenz von anti-SS-A/Ro wird mit bis zu 96% bei primärem, bis zu 80% bei sekundärem Sjögren-Syndrom angegeben, wobei anti-Ro52 eine höhere Spezifität als anti-Ro60 besitzen. Häufig bestehen Assoziationen mit ► **extraglandulären Manifestationen** (Lymphadenopathie, Splenomegalie oder Vaskulitis). Bei asymptomatischen Patienten und bei noch unvollständig ausgeprägten klinischen Symptomen erhöht sich bei Anwesenheit dieser Antikörper das Risiko, an einem voll ausgeprägten Sjögren-Syndrom zu erkranken.

Die Prävalenz der SS-B/La-Antikörper ist mit 70% beim primären und mit 50% beim sekundären Sjögren-Syndrom geringer. Die gleichzeitige Anwesenheit beider Antikörperspezifitäten (Ro und La) erhärtet die Diagnose des Sjögren-Syndroms [7].

SLE. SS-A/Ro-Antikörper finden sich bei 25–60% der Patienten mit SLE. Sie können, müssen aber nicht zusammen mit anderen SLE-Markern wie anti-ds-DNA oder anti-Sm auftreten. Die gleichzeitige Anwesenheit von anti-SS-B/La (Prävalenz: bis zu 25%) soll auf eine günstigere Prognose des Krankheitsverlaufs (seltener Nierenmanifestationen) hinweisen. SLE-Patienten mit bestimmten Komplementfaktordefekten, insbesondere bei C2- oder C4-Defizienzen, haben meistens SS-A/Ro-Antikörper, so z. B. 75% der homozygot C2-Defizienten.

Subakuter kutaner LE. SS-A/Ro-Antikörper gelten als diagnostische Marker des subakuten kutanen LE, bei dem sie in 90–100% der Fälle nachgewiesen werden. SS-B/La-Antikörper finden sich bei dieser Unterform des SLE in bis zu 80% der Fälle. Etwa 10% der Patienten entwickeln später das Vollbild eines SLE. Auch können Überlappungen mit einem Sjögren-Syndrom vorliegen.

Neonataler LE (NLE). Gelangen SS-A/Ro- und/oder SS-B/La-Antikörper von der Mutter diaplazentar in den kindlichen Kreislauf, entwickeln 5–10% der Neugeborenen ein neonatales Lupussyndrom. Bei über 90% der Neugeborenen und bei 100% der (nicht obligatorisch erkrankten) Mütter (25% bleiben symptomlos) finden sich Antikörper gegen Ro60, Ro52 und/oder SS-B/La, wobei die Koinzidenz der 3 Antikörperspezifitäten – insbesondere von Anti-Ro52 und Anti-SS-B/La – in hohen Konzentrationen die Entwicklung des ► **kongenitalen Herzblocks** fördert, einer zwischen der

Fodrinantikörper werden beim ANA-Screening-Test nicht erfasst

Antikörper gegen SS-B/La treten nahezu ausschließlich gemeinsam mit anti-SS-A/Ro auf

► Hypergammaglobulinämie

► Extraglanduläre Manifestationen

Die gleichzeitige Anwesenheit beider Antikörperspezifitäten (Ro und La) erhärtet die Diagnose des Sjögren-Syndroms

SLE-Patienten mit bestimmten Komplementfaktordefekten haben meistens SS-A/Ro-Antikörper

► Kongenitaler Herzblock

Die Symptome des NLE verschwinden in den Folgemonaten parallel mit der Abnahme der mütterlichen Immunglobuline im kindlichen Blut

► Sicca-Symptomatik

Anti-Scl-70 sind Markerantikörper der Sklerodermie mit einer Spezifität von nahezu 100%

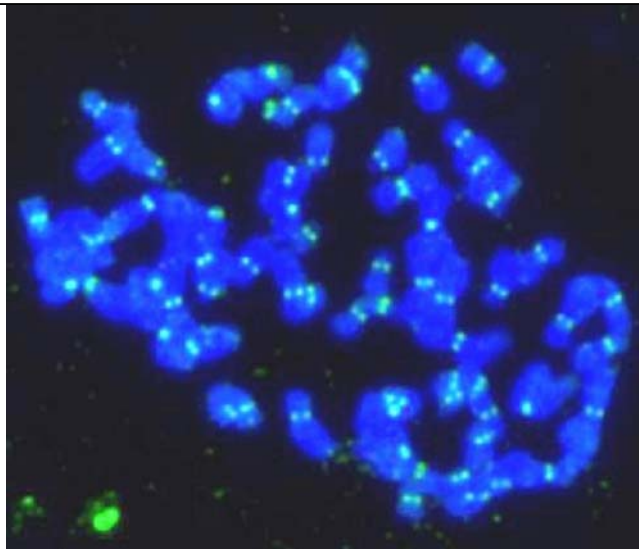


Abb. 2 ◀ Chromosomenpräparat mit Zentromerantikörper

16. und 24. Schwangerschaftswoche auftretenden irreversiblen Herzrhythmusstörung in Form eines AV-Blocks dritten Grades. Dieser folgenschwere kongenitale Herzblock entwickelt sich bei 1–2 % aller Kinder von SS-A/Ro-positiven Müttern [12].

Der NLE manifestiert sich darüber hinaus mit Erythemen an lichtexponierten Stellen in den ersten Tagen nach der Geburt, Anämie, Thrombo- und Leukozytopenie und interstitieller Pneumonitis. Nieren- und andere Organmanifestationen sind selten. Diese Symptome verschwinden in den Folgemonaten parallel mit der Abnahme der mütterlichen Immunglobuline im kindlichen Blut.

Sklerodermie. SS-A/Ro-Antikörper sind bei Sklerodermiepatienten nur selten nachweisbar.

Myositis. Ro52-Antikörper sind häufig bei Myositispatienten mit Amino-acyl-tRNA-Synthetase (58–70%), SRP- (43%) und PM-Scl-Antikörpern (47%) zu finden. Hierbei besteht aber keine Korrelation mit einem Sjögren-Syndrom.

RA. SS-A/Ro-Antikörper werden bei 5–8% der Patienten mit RA gefunden. Es bestehen dann Assoziationen mit einer ► **Sicca-Symptomatik** und anderen extraartikulären Manifestationen wie Vasculitiden, Neutrozytopenien und zirkulierenden Immunkomplexen.

Mischkollagenosen. Beim SHARP-Syndrom (MCTD) werden SS-A/Ro- oder SS-B/La-Antikörper definitionsgemäß nie gefunden, dagegen oft bei so genannten undifferenzierten Kollagenosen (UCTD), die (noch) keine ACR-Kriterien vollständig erfüllen [12].

Autoantikörper bei der systemischen Sklerose (Sklerodermie)

Die meisten Sklerodermie-assoziierten Autoantikörper zeigen im ANA-IIFT-Test ein nukleäres, nukleoläres oder zentromeres Muster. Die wichtigsten Antikörper sind gegen Topoisomerase I (Scl-70), Zentromere (CENP-B) sowie gegen RNA-Polymerasen und Fibrillarin gerichtet [2].

Topoisomerase-I-Antikörper (anti-Scl-70)

Topoisomerase I [wegen des ursprünglich angenommenen Molekulargewichts von 70 kDa auch Scl-70 (Scl für: „scleroderma“) genannt] ist ein im Karyoplasma gelegenes Enzym, das die Entwindung von ds-DNA katalysiert. Scl-70-Antikörper zeigen im ANA-IIFT ein feinst granuläres Fluoreszenzmuster (■ **Abb. 1b**). Bei negativem ANA-Test ist eine Untersuchung auf anti-Scl-70 nicht mehr indiziert.

Anti-Scl-70 sind Markerantikörper der Sklerodermie mit einer in der Literatur angegebenen Spezifität von nahezu 100%. Neuere epidemiologische Daten aus dem Deutschen Netzwerk für Systemische Sklerose (DNSS) und dem Europäischen Konsortium EUSTAR mit zusammen mehr als 5000

Sklerodermiepatienten weisen aber auf eine – auch für die Anti-Zentromer-Antikörper (s. unten) geltende – niedrigere Sensitivität und Spezifität hin.

Scl-70-Antikörper finden sich in <10% der Fälle von limitierter Sklerodermie und CREST-Syndrom (Calcinosis cutis, Raynaud-Phänomen, Ösophagusdysmotilität, Sklerodaktylie, Teleangiektasien) und bei bis zu 65% der diffusen, systemischen Sklerodermien. Auch beim isolierten Raynaud-Syndrom (6%) können sie auftreten und auf die mögliche Entwicklung einer systemischen Sklerodermie hinweisen, da sie bereits Jahre vor der Erstmanifestation der Erkrankung vorliegen können. Nur sehr selten sind sie bei anderen Kollagenosen oder bei Quarzstaub-exponierten Bergleuten (<1%) zu finden. Sie treten in der Regel nicht zusammen mit anderen Sklerodermiemarkern auf: Ein gemeinsames Auftreten mit Zentromerantikörpern findet sich nur ganz selten, bei <1% der Sklerodermiepatienten [2].

Bei Scl-70-Antikörper-positiven Patienten mit SLE oder Sjögren-Syndrom (ebenfalls sehr selten) ist stets ein ► **Overlap-Syndrom** mit der Sklerodermie in Betracht zu ziehen.

Scl-70-Antikörper weisen auf eine, im Vergleich zu Patienten mit Zentromerantikörpern, prognostisch ungünstigere Verlaufsform der Erkrankung hin (diffuser Hautbefall, Gesichtssklerose, Nieren- und Herzbeteiligung, Alveolitis und Lungenfibrose, ischämische Ulzerationen der Finger). Bei >50% der Patienten mit Lungenfibrose finden sich auch Scl-70-Antikörper. Auch wenn anti-Scl-70 häufiger bei Patienten mit diffuser Sklerodermie als bei solchen mit limitierter Sklerodermie vorkommen, erlauben sie letztlich nicht die differenzialdiagnostische Unterscheidung der beiden Krankheitsformen. Vereinzelt wurde beobachtet, dass anti-Scl-70 im Verlauf einer prognostisch günstigen Form der Erkrankung verschwinden. In der Regel bleibt die Antikörperkonzentration aber über lange Zeiten des Krankheitsverlaufes konstant und spiegelt die Krankheitsaktivität nicht wider.

Zentromerantikörper (ACA)

Diese bei Patienten mit Sklerodermie oder Raynaud-Symptomatik vorkommenden Antikörper richten sich gegen in der Zentromerenregion der Chromosomen gelegene Proteine (CENP). Häufigstes Zielantigen ist das CENP-B (>95%). Antikörper gegen CENP-A, CENP-C und CENP-D finden sich meist zusammen mit solchen gegen CENP-B. Antikörper gegen CENP-E und CENP-F sind extrem selten und nicht mit der Sklerodermie assoziiert. ACA zeigen im ANA-IIFT ein charakteristisches Fluoreszenzmuster. Nur in Zweifelsfällen (niedrigtitrige ACA, Überlagerung der Fluoreszenz durch ANA anderer Spezifitäten) muss an Chromosomenpräparaten (► **Abb. 2**) oder mittels Elisa bzw. Immunoblot unter Verwendung meist rekombinanter Antigene die Antikörperspezifität überprüft werden.

Antikörper gegen Zentromeren sind Marker der limitierten Sklerodermie (Akrosklerodermie, CREST-Syndrom) und häufig schon vor Beginn der klinischen Symptome nachweisbar. Sie finden sich beim ► **CREST-Syndrom** oder ähnlichen Varianten mit relativ milder Verlaufsform in 60–80% und bei diffusen Formen der Sklerodermie in 3–12%. Die Titer der CENP-B-Antikörper sind bei Sklerodermiepatienten meist wesentlich höher als bei ACA-positiven Patienten mit anderen Erkrankungen [5]. Die Serumkonzentration der Antikörper verändert sich während des Krankheitsverlaufes nur wenig. ACA-positive Sklerodermiepatienten entwickeln weniger häufig eine interstitielle Lungenfibrose und haben seltener eine Nierenbeteiligung. Auch ACA können bereits Jahre vor der Manifestation spezifischer Sklerodermiesymptome auftreten und vor allem bei Patienten mit Raynaud-Symptomatik die mögliche Entwicklung einer Sklerodermie andeuten. Nur selten finden sich ACA bei zirkumskripten Sklerodermie, anderen Kollagenosen, primärer pulmonaler Hypertonie oder chronisch-aktiver Hepatitis. Häufig sind sie dagegen bei der primär biliären Zirrhose (10–30%) anzutreffen [2, 8].

RNA-Polymerase-Antikörper (RNAP-Antikörper)

RNA-Polymerasen (RNAP) sind ► **Multiproteinkomplexe** aus je 8–14 Proteinen mit Molekulargewichten zwischen 10 und 220 kDa. ► **Eukarionten** besitzen 3 verschiedene RNA-Polymerasen. RNAP I (A) transkribiert die ribosomale RNA (rRNA), RNAP II (B) die Vorläufer der mRNA (hnRNA), RNAP III (C) tRNA und andere kleinere RNA-Einheiten.

RNAP I findet sich im Nukleolus. Antikörper gegen dieses Enzym rufen im ANA-IIFT eine nukleoläre Fluoreszenz hervor. RNAP II und III sind im Karyoplasma gelegen. RNAP-Antikörper richten sich vor allem gegen die hochmolekularen Proteinuntereinheiten der 3 Enzyme.

► Overlap-Syndrom

Die Scl-70 Antikörperkonzentration spiegelt die Krankheitsaktivität nicht wieder

ACA zeigen im ANA-IIFT ein charakteristisches Fluoreszenzmuster

► CREST-Syndrom

ACA können bereits Jahre vor der Manifestation spezifischer Sklerodermiesymptome auftreten

► Multiproteinkomplexe ► Eukarionten

Bei Europäern schließt die Anwesenheit von RNAP-Antikörpern andere sklerodermieassoziierte Antikörper in der Regel aus

► **Synthetaseantikörper**

Antikörper gegen die Histidyl-tRNA-Synthetase (anti-Jo-1) gelten als Markerantikörper für Poly- und Dermatomyositis

► **Zytoplasm fluoreszenz**

► **Juvenile Myositis**

Tab. 2 ANA-Fluoreszenzmuster und Auswahl der korrespondierenden Antigene

Kernmembran	
Membranös	Lamine A, B, C, Kernporenkomplex-Glykoprotein gp 210, Nucleoporin, Lamin-B-Rezeptor
Nukleoplasma	
Homogen	ds-DNA, Histone, Nukleosomen und andere Chromatin-assoziierte Antigene
Groß gesprenkelt	hnRNP-Proteine, RA-33
Grob gesprenkelt	U-snRNP-Proteine, U1-70K, U1-A-, U1-C-Protein, Sm-Proteine
Fein gesprenkelt	SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, Topoisomerase I (Scl-70), Ku-80, Ku-70
Pleomorph gesprenkelt (PCNA)	„Proliferating cell nuclear antigen“ (PCNA)
Nukleäre Punkte	Sp-100-Protein, Coilin p80 („coiled body“)
Zentromeren	
	CENP-A, CENP-B, CENP-C
Nukleolus	
	PM-Scl, Nucleolin, Fibrillarin, RNA-Polymerase I, RNase P, NOR-90

RNAP-Antikörper werden bei bis zu 20% der Patienten mit Sklerodermie, aber nur selten bei anderen Autoimmunerkrankungen gefunden. Sie sind mit schwereren Formen einer diffusen Sklerodermie mit meist ungünstiger Prognose (aufgrund einer häufigen Herz-, Leber- und Nierenbeteiligung) assoziiert. Nur selten können sie auch beim SLE und bei Overlap-Syndromen nachgewiesen werden.

Da die RNAP-Antikörper häufig kombiniert vorkommen, ist eine differenzierte Beurteilung der klinischen Relevanz der einzelnen Spezifitäten kaum möglich. Die unterschiedliche Erkennung der Antigene RNAP I bis III wird stark vom ethnischen Hintergrund beeinflusst. Bei Europäern schließt die Anwesenheit von RNAP-Antikörpern andere sklerodermieassoziierte Antikörper in der Regel aus.

Fibrillarinantikörper (U3-snoRNP)

Sie kommen bei <10% der Sklerodermiepatienten vor, sind bei afroamerikanischen Patienten aber deutlich häufiger. Fibrillarinantikörper sind gegen ein 34 kDa-Protein gerichtet und zeigen im IIFT ein charakteristisches nukleoläres Muster ohne Mitosenfluoreszenz [2].

Autoantikörper bei autoimmunen Myositiden

Viele Myositiden gehen mit hochspezifischen Autoantikörpern einher: Antikörper gegen Mi-2 sind vor allem bei Patienten mit Dermatomyositis (bis 30%) nachweisbar; die Polymyositis teilt sich in Unterformen auf, die entweder ► **Synthetaseantikörper** entwickeln – am häufigsten den Jo-1-Antikörper – oder Antikörper gegen SRP. Darüber hinaus gibt es auch antikörperfreie Myositiden, von denen sich besonders die Einschlusskörperchenmyositis aufgrund ihrer Histologie abgrenzt.

Histidyl-tRNA-Synthetase-Antikörper (Jo-1)

Antikörper gegen die im Zytoplasma gelegene Histidyl-tRNA-Synthetase (anti-Jo-1) gelten als Markerantikörper für Poly- und Dermatomyositis. Sie stellen mit einer Prävalenz von bis zu 35% die häufigste Spezies der Aminoacyl-tRNA-Synthetase-Antikörper dar. Andere, sehr seltene Synthetaseantikörper sind PL7, PL12, EJ, OJ u. a. Die Synthetaseantikörper sind nicht selten mit antinukleären Antikörpern vergesellschaftet (anti-SS-A/Ro, anti-Ro52). Bei einer ► **Zytoplasm fluoreszenz** im Rahmen eines ANA-IIFT sollte immer an die Möglichkeit von tRNA-Synthetase-Antikörpern gedacht werden.

Anti-Jo-1 findet sich bei etwa 35% der Erwachsenen mit Myositis und vor allem (>70%) bei Myositispatienten mit gleichzeitiger Lungensymptomatik, Arthritis und Raynaud-Phänomen, seltener bei der Dermatomyositis. Bei der ► **juvenilen Myositis** werden Jo-1-Antikörper nur selten gesehen. Bei Erwachsenen sind Jo-1-Antikörper in der Regel schon frühzeitig beim Krankheitsbeginn bzw. bereits vor der Manifestation der klinischen Symptome nachweisbar. Sie kennzeichnen schwere Krankheitsbilder mit häufigeren Exazerbationen und einer allgemein schlechteren Prognose. Die Antikörper können unter Therapie bei Besserung der klinischen Symptomatik wieder verschwinden.

Viele der anti-Jo-1-positiven Patienten zeigen Symptome des so genannten **▶ Anti-Synthetasesyndroms** (früher Anti-Jo-1-Syndrom genannt). Dieses manifestiert sich mit Myositis (90–100%), interstitieller Lungenfibrose (80–90%), Arthritis (50–90%), gelegentlich mit so genannten „Mechanikerhänden“ (Fissuren bei Hyperkeratosen) sowie selten Raynaud-Phänomen und Sklerodaktylie.

Signalerkennungspartikel- (SRP-) Antikörper

Der SRP, ein zytoplasmatischer **▶ Ribonukleoproteinkomplex**, ist aus 6 Proteinen mit Molekulargewichten von 9, 14, 19, 54, 68 und 72 kDa und einer RNA aufgebaut. Er dient der Einschleusung neu synthetisierter Proteine mit Signalsequenzen in das endoplasmatische Retikulum.

Antikörper gegen den SRP reagieren fast immer mit dem 54kDa-Protein (SRP 54) und zeigen im IIFT mit HEp-2-Zellen eine homogene Zytoplasmafluoreszenz. Spezifisch und empfindlich werden sie schließlich mittels **▶ Radioimmunpräzipitation** nachgewiesen.

SRP-Antikörper finden sich bei 4% der Patienten mit einer meist schweren, therapierefraktären akuten oder subakuten Myositis mit oft ausgeprägten Myonekrosen und einer schlechten Fünfjahresüberlebensrate (25%), oft infolge kardialer Manifestationen [2].

Mi-2-Antikörper

Mi-2-Antikörper richten sich gegen ein etwa 235 kDa großes Kernprotein, das Homologien zu nukleären Helicasen aufweist und möglicherweise an Umlagerungsprozessen von DNA und Histonen beteiligt ist. Im ANA-IIFT zeigen die Antikörper eine sehr feingranuläre Fluoreszenz des Karyoplasmas. Bei negativem ANA-IIFT und Myositis ist daher eine Untersuchung auf anti-Mi-2 nicht indiziert. Der spezifische Nachweis erfolgt mit rekombinanten Proteinen im ELISA oder Immunoblot.

Mi-2-Antikörper sind hochspezifische Marker für die Dermatomyositis. Sie treten meist bei adulter (15–30%) und juveniler Dermatomyositis (10–15%) aber nur sehr selten bei der Polymyositis auf. Die diagnostische Spezifität für die Dermatomyositis liegt bei 99%. In der Regel verläuft diese Erkrankung mild, Synovialitiden und Lungenmanifestationen sind selten. Die Patienten sprechen gut auf Glukokortikosteroide an. Die Prognose ist im Allgemeinen gut.

Autoantikörper bei Überlappungssyndromen und bei der Mischkollagenose (MCTD)

Unterschieden werden muss zwischen der „Mischkollagenose“ im engeren Sinne, dem **▶ SHARP-Syndrom**, auch „MCTD“ („mixed connective tissue disease“) genannt, sowie andererseits den verschiedenen Mischkollagenosen, die entweder einen eigenen charakteristischen Antikörper (wie PM-Scl oder Ku) haben oder die „**▶ Overlap-Syndrome**“ von 2 Kollagenosen oder einer Kollagenose mit der RA sind [7, 12].

Das SHARP-Syndrom geht mit solitären hochtitrigen 70 kD-RNP-Antikörpern einher.

Die RA zeigt Overlap-Syndrome mit SLE, Sjögren-Syndrom und Myositis, jedoch nicht mit der Sklerodermie.

Der SLE hat fast nie Overlap-Syndrome mit Myositiden und Sklerodermien, häufig aber mit RA, Sjögren-Syndrom und autoimmunen Lebererkrankungen (AIH und PBC).

So genannte „undifferenzierte Kollagenosen“ (UCTD) erfüllen (noch) keine ACR-Kriterien, haben jedoch bereits Krankheitswert und weisen Autoantikörper – oftmals SS-A/Ro – auf.

PM-Scl-Antikörper

PM-Scl-Antikörper (auch PM-1 genannt) richten sich hauptsächlich gegen zwei 100 und 75 kDa große Proteinantigene in RNA-verarbeitenden, im Nukleolus und Karyoplasma gelegenen **▶ Exosomen**. PM-Scl-Antikörper zeigen im ANA-IIFT eine nukleolär-homogene Fluoreszenz (■ **Abb. 1d**). Sie erkennen regelmäßig PM-Scl-100 (90–98%), weniger häufig PM-Scl-75 (50–63%). Zwischen 2 und 10% der Antikörper richten sich gegen Konformationsepitope und werden mit Assays, die lineare rekombinante Proteine zum Nachweis der Antikörper verwenden, oder mit Immunoblot-Techniken nicht erfasst.

▶ Anti-Synthetasesyndrom

▶ Ribonukleoproteinkomplex

▶ Radioimmunpräzipitation

Mi-2-Antikörper sind hochspezifische Marker für die Dermatomyositis

▶ SHARP-Syndrom

▶ Overlap-Syndrome

▶ Exosom

Bis zu 88% der PM-Scl-Antikörper-positiven Patienten haben ein Polymyositis-Sklerodermie-Überlappungssyndrom

► Juvenile Skleromyositis

Antikörper gegen U1-RNP werden bei vielen verschiedenen Autoimmunerkrankungen gefunden

Fehlende U1-RNP-Antikörper schließen eine MCTD aus

► Anti-Ku-Syndrom

► Lupusnephritis

Bei 70% der SLE-Patienten lässt sich vor einer Exazerbation der klinischen Symptome auch ein Anstieg der dsDNA-Antikörper messen

► Interassay-Varianz

Der fehlende Nachweis von dsDNA-Antikörpern schließt einen aktiven Schub eines SLE nicht aus

Anti-PM-Scl finden sich bei Polymyositis-Sklerodermie-Überlappungssyndromen (25–55%), Poly-/Dermatomyositis (8–12%) und Akrosklerodermie (1–16%). Bis zu 88% der PM-Scl-Antikörper-positiven Patienten haben ein Polymyositis-Sklerodermie-Überlappungssyndrom, 20% nur eine Myositis und 10% nur eine Sklerodermie. Die Antikörper kommen stets isoliert, niemals in Kombination mit anderen Markerantikörpern der Myositis oder Sklerodermie vor.

Neben einer Myositis finden sich häufig auch Arthritiden, Raynaud-Phänomen, Ösophagusmotilitätsstörungen oder eine milde interstitielle Pneumonitis. Herz und Nieren sind selten betroffen (1–3%). Die Prognose anti-PM-Scl-positiver Patienten ist mit einer Zehnjahresüberlebenszeit von 100% ausgesprochen gut. Anti-PM-Scl-positive Kinder können eine mild verlaufende ► **juvenile Skleromyositis** entwickeln, die häufigste sklerodermieähnliche Erkrankung in dieser Altersgruppe überhaupt.

U1-snRNP-Antikörper

U1-snRNP-Antikörper richten sich gegen die für den spleißosomalen U1-snRNP-Partikel („small nuclear ribonucleoprotein“ mit U1-RNA) spezifischen Proteine U1-70K, A und/oder C. In den meisten Fällen reagieren U1-RNP-Antikörper mit dem U1-70K-Protein (68 kDa-Protein). Das IIFT-Muster ist gesprenkelt (■ **Abb. 1c**). Bei negativem ANA-IIFT ist eine Untersuchung auf Antikörper gegen U1-snRNP mit spezifischen Testen wie ELISA oder Immunoblot nicht indiziert.

Antikörper gegen U1-RNP werden bei vielen verschiedenen Autoimmunerkrankungen gefunden, sie sind nicht für den SLE spezifisch [2, 8, 12]. Hohe solitäre Antikörpertiter gegen U1-70K sind charakteristisch für und ein ACR-Kriterium der 1971 von Sharp und Mitarbeitern beschriebenen Mischkollagenose (MCTD), die durch überlappende Symptome von SLE, Polymyositis und Sklerodermie gekennzeichnet ist. Fehlende U1-RNP-Antikörper schließen eine MCTD daher aus. Lupuspatienten mit U1-RNP-Antikörpern (13–32%) tendieren zu Raynaud-Phänomen und Arthritiden, scheinen aber etwas weniger häufig eine Nephritis zu entwickeln [3, 4, 6].

Ku-Antikörper

Antikörper gegen Ku, 2 Proteinkinasekomponenten von 70–86 kDa, kommen sehr selten (<5%) beim Lupus vor, vorwiegend aber bei (asiatischen) Patienten mit einem Myositis-Sklerodermie-Overlap-Syndrom. Eine eingehendere Charakterisierung dieses (seltenen) ► **Anti-Ku-Syndroms** steht noch aus [2, 8].

Labortechnische Verlaufskontrollen der Krankheitsaktivität bei Kollagenosen: Autoantikörpertiter und Komplement

Nicht nur die Anwesenheit der ds-DNA-Antikörper, sondern auch ihre Konzentration können mit der Aktivität der Erkrankung, insbesondere mit der Aktivität einer ► **Lupusnephritis**, korrelieren. Im inaktiven Stadium und bei behandelten Patienten können die Antikörper verschwinden.

Bei 70% der SLE-Patienten lässt sich vor einer Exazerbation der klinischen Symptome auch ein vorausgehender Anstieg der ds-DNA-Antikörper messen. Eine frühzeitige intensive Behandlung vor der drohenden Exazerbation scheint den klinischen Verlauf deutlich zu verbessern [12]. Bei Patienten mit über lange Zeiträume hinweg gleichbleibenden Antikörperspiegeln werden aktive Schübe weniger häufig beobachtet. Es wird daher eine regelmäßige, 4- bis 6-wöchige Kontrolle der anti-ds-DNA-Konzentrationen empfohlen. Um die ► **Interassay-Varianz** möglichst weitgehend zu vermeiden, sollte nach Möglichkeit eine vorangegangene Serumprobe bei den Untersuchungen mitgeführt werden. Die Halbwertszeit des IgG ist dabei zu berücksichtigen.

Auch wenn eine gewisse Beziehung zwischen Antikörperkonzentration und Krankheitsaktivität zu bestehen scheint, ist es nicht pauschal gerechtfertigt, hieraus diagnostische oder therapeutisch relevante Gesetzmäßigkeiten abzuleiten. Auch in inaktiven Stadien des SLE können hohe dsDNA-Antikörper-Konzentrationen vorliegen. Der fehlende Nachweis von dsDNA-Antikörpern schließt einen aktiven Schub eines SLE jedenfalls nicht aus. Vereinzelt wurden auch Korrelationen zwischen Antikörperspiegel und Krankheitsaktivität bei Anti-Nukleosomen- und Sm-Antikörpern bei SLE beschrieben [10].

Komplementdiagnostik bei Kollagenosen

Zur Diagnostik und Verlaufsbeurteilung entzündlich rheumatischer Erkrankungen werden eine Reihe verschiedener Serumproteinmessungen herangezogen. Diese können – mit absteigender Relevanz für den Rheumatologen – wie folgt geordnet werden:

1. Akute-Phase-Proteine (CRP, Fibrinogen u. a.),
2. Proteinkomponenten des Immunsystems (Komplement, Immunglobuline, Interleukine),
3. Metalloproteine (Ferritin, Transferrin, Coeruloplasmin),

Das Komplementsystem kann bei einer Reihe von entzündlichen Rheumaerkrankungen (Kollagenosen, Vaskulitiden) in Abhängigkeit von der Krankheitsaktivität aktiviert werden, was zum Verbrauch von Komplementfaktoren führt [7]. Insbesondere beim SLE spielt das Monitoring von Komplement eine wichtige Rolle.

Verschiedene Artefakte sowie genetische Defekte der Bildung einzelner Komplementfaktoren können einen Abfall des Spiegels eines oder mehrerer Komplementfaktoren hervorrufen:

1. hohe Krankheitsaktivität mit Komplementverbrauch.
2. hohe Immunkonzentration im Blut,
3. genetische Defekte von Komplementkomponenten,
4. es wird nicht frisches (also nicht umgehend gekühltes bzw. eingefrorenes) Serum oder Plasma untersucht. Serum für Komplementmessungen darf maximal 4 Stunden bei Kühlschranktemperatur gelagert werden, ansonsten muss es bis zur Messung eingefroren werden,
5. es liegen andere Störfaktoren vor, z. B.:
 - a) Kryoglobuline (können niedrige CH₅₀ verursachen),
 - b) Cardiolipinantikörper (sind mit niedrigem C₄ assoziiert),
 - c) Antikörper gegen Komplementkomponenten, z. B. gegen C_{1q},
 - d) Komplementaktivierung in vitro, auch in der Kälte, jedoch nicht in vivo.

Bei jeder Diagnose eines LE, ob systemisch oder kutan, sollte zunächst eine Messung der Komplementgesamtaktivität, der CH₅₀, vorgenommen werden. Die CH₅₀-Methode ist der CH₁₀₀ aus Linearitätsgründen methodisch überlegen [9].

Als Globaltest entdeckt diese Bestimmungsmethode Komplementdefekte in jedem Fall und ist heute mittels automatisierter Verfahren genauer und einfacher durchzuführen als die früher verwendeten Erythrozytolysetechniken.

Durch die Messung der CH₅₀ kann ein genetischer Mangel der bei lupusähnlichen Syndromen vorkommenden Komplementdefekte (homozygote Defizienzen von C_{1q}, C_{1r}, C_{1s}, C₂ oder C₄) entdeckt werden, denn die CH₅₀ ist dann nahezu null.

Der Nachweis von Komplementdefekten erlaubt gewisse prognostische Annahmen, da die lupusähnlichen Syndrome bei Komplementdefekten seltener schwerwiegende zerebrale und renale Organbeteiligungen entwickeln als der genuine SLE [12].

Der häufigste Komplementdefekt ist der ererbte C₂-Defekt, welcher durch eine direkte C₂-Messung und/oder über den Nachweis einer HLA-B*18-DR15-Homozygotität bestätigt wird und eine Prävalenz von etwa 1:10.000 hat.

Durch die Messung eines Abfalls der CH₅₀ oder der Komplementkomponenten C₄ und C₃ kann die Krankheitsaktivität komplementverbrauchender Prozesse mit präzisen Messmethoden verfolgt werden.

Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Komplementkomponenten als ► **Akute-Phase-Proteine** bei Krankheitsschüben auch in vermehrtem Maße produziert werden, was einen Komplementverbrauch ganz oder teilweise kompensieren kann. Daher wurde auch die vermehrte Bildung von Spaltprodukten, z. B. von C_{3d} oder C_{4d}, zum Monitoring des Komplementumsatzes beim SLE gemessen [11, 12].

Wenn (beim SLE) C₃, C₄ und die CH₅₀ gemeinsam vermindert sind, so kann dies auf einen starken Komplementverbrauch bei schwerer Erkrankung, speziell auf eine Nephritis, hinweisen.

Ist jedoch nur das C₄ vermindert, sind C₃ und CH₅₀ dagegen normal, so ist dies kein sicherer Hinweis auf eine hohe Krankheitsaktivität, sondern manchmal ein individuelles Phänomen, welches besonders bei Anwesenheit von Cardiolipinantikörpern beschrieben wurde [12]. Die C₄-Spiegel beim SLE unterliegen außerdem einer hohen individuellen Schwankungsbreite, da eine verschiedene An-

Beim SLE spielt das Monitoring von Komplement eine wichtige Rolle

Bei jeder Diagnose eines LE sollte zunächst eine Messung der Komplementgesamtaktivität, der CH₅₀, vorgenommen werden

► Akute-Phase-Proteine

Wenn beim SLE C₃, C₄ und die CH₅₀ gemeinsam vermindert sind, so kann dies auf eine Nephritis hinweisen

zahl vorhandener Null-Allele für C4A und C4B vorliegen kann – speziell beim Lupus –, und da aufgrund des ausgeprägten Polymorphismus der C4-Gene unterschiedliche Ausgangswerte für C4 vorliegen, die bis zu 700% interindividuelle Schwankungsbreite haben können [11].

Dagegen zeigt ein deutlicher Abfall des C3- oder ein Anstieg des C3d-Wertes in den meisten Fällen einen ausgeprägten Komplementverbrauch (und damit einen Krankheitsschub) an, wobei der Komplementabfall dem Krankheitsschub zeitlich vorausgehen kann.

Korrespondierender Autor

K. Hartung

Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin, Klinikum Bremerhaven Reinkenheide
Postbrookstraße 103, 27574 Bremerhaven
Klaus.Hartung@klinikum-bremerhaven.de

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor versichert, dass keine Verbindungen mit einer Firma, deren Produkt in dem Artikel genannt ist, oder einer Firma, die ein Konkurrenzprodukt vertreibt, bestehen. Die Präsentation des Themas ist unabhängig und die Darstellung der Inhalte produktneutral.

Literatur

1. Aruckle MR, McClain MT, Rubertone MV et al. (2003) Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 349: 1526–1533
2. Conrad K (Hrsg) (1998) Autoantikörper. Update: Clinical Immunology, Vol 8. Pabst Science, Lengerich
3. Ehrfeld H, Renz M, Hartung K et al. (1994) Rekombinante Ro-, La und U1-n-RNP-Antigene: Nachweis von Autoantikörpern mittels ELISA und klinische Assoziationen beim SLE. *Z Ärztl Fortbild* 88: 495–500
4. Font J, Cervera R, Ramos-Casals M et al. (2004) Clusters of clinical and immunologic features in systemic lupus erythematosus: analysis of 600 patients from a single center. *Semin Arthritis Rheum* 33: 217–230
5. Ho KT, Reveille JD (2003) The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. *Arthritis Res Ther* 5: 80–93
6. Hoffman IE, Peene I, Meheus L et al. (2004) Specific antinuclear antibodies are associated with clinical features in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 63: 1155–1158
7. Koopman WJ (ed) (2005) Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology. Williams & Wilkins, Baltimore
8. Peter JB, Shoenfeld Y (eds) (1996): Autoantibodies. Elsevier, Amsterdam
9. Porcel JM, Peakman M, Senaldi G, Vergani D (1993) Methods for assessing complement activation in the clinical immunology laboratory. *J Immunol Methods* 157: 1–9
10. Riemekasten G, Marell J, Trebeljahr G et al. (1998) A novel epitope on the C-terminus of Smd1 is recognized by the majority of sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 102: 754–763
11. Tsokos GC (ed) (2004) Complement in autoimmunity. Current directions in autoimmunity, vol 7. Karger, Basel Freiburg New York
12. Wallace DJ, Hahn BH (eds) (2002) Dubois' Lupus Erythematosus, 6th edn. Williams & Wilkins, Baltimore
13. Wiik A (2005) Anti-nuclear antibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. *Scand J Rheumatol* 34: 260–268
14. Witte T, Matthias T, Arnett FC et al. and the SLE-Study Group (2000) IgA and IgG autoantibodies against alpha-Fodrin as markers for Sjögren's Syndrome. *J Rheumatol* 27: 2617–2620

Bitte beachten Sie:

Antwortmöglichkeit nur online unter: **CME.springer.de**

Die Frage-Antwort-Kombinationen werden online individuell zusammengestellt.

Es ist immer nur eine Antwort möglich.

Fragen zur Zertifizierung

Eine 35jährige Patientin mit AZ-Verschlechterung, Arthralgien und unklaren Fieberschüben wird zur weiteren Abklärung in Ihre Praxis überwiesen. Vom überweisenden Kollegen wurden bereits ANA mit einem Titer von 1:1280 und homogenem Fluoreszenzmuster nachgewiesen. Welche Ergebnisse erwarten Sie in der weiteren serologischen Abklärung?

- Eine weitere serologische Abklärung ist aufgrund des niedrigen ANA-Titers nicht sinnvoll
- Nachweis von ds-DNA-Antikörpern
- Jo-1-Antikörper
- In der Subklassendifferenzierung der ANA den Nachweis von IgA-Antikörpern
- Eine weitere serologische Abklärung erübrigt sich aufgrund des homogenen Fluoreszenzmusters

Beim SLE kann die Bestimmung der Aktivität verschiedener Komplementfaktoren zur Abschätzung der Krankheitsaktivität herangezogen werden. Für die Interpretation der erhobenen Befunde gilt:

- Das für die Komplementbestimmung gewonnene Serum darf nicht gekühlt gelagert werden
- Genetische Defekte einzelner Komplementfaktoren kommen bei lupusähnlichen Syndromen fast nicht vor
- Die Bestimmung des C4-Spiegels eignet sich aufgrund seiner geringen individuellen Schwankung besonders zur

Abschätzung der Krankheitsaktivität

- Ein ausgeprägter Polymorphismus in den C4-Genen führt zu individuell sehr unterschiedlichen C4-Spiegeln
- Die Bestimmung der Komplementgesamtaktivität mittels CH50-Methode ergibt bei hoher Krankheitsaktivität oft erniedrigte Werte, da Komplementkomponenten als Akute-Phase-Proteine keine Rolle spielen

Ein 45-jähriger Mann stellt sich mit unklaren muskelkaterartigen Schmerzen im Schulter- und Beckengürtelbereich bei Ihnen vor. In der Blutuntersuchung lassen sich erhöhte Skelettmuskelenzyme nachweisen, im Immunfluoreszenztest findet sich eine Zytoplasmafluoreszenz. Welche weiteren diagnostischen Schritte leiten Sie ein?

- Aufgrund des negativen ANA-Nachweises ist eine Kollagenose unwahrscheinlich. Zum Ausschluss einer Muskeldystrophie überweise ich den Patienten zum Neurologen.
- Ich vermute ein Jo-1 Syndrom. Zum Ausschluss einer Lungenbeteiligung veranlasse ich Lungenfunktionsprüfung, CO-Diffusionsmessung und HRCT der Lunge sowie einen Jo-1-ELISA.
- Der Patient berichtet regelmäßig Krafttraining zu absolvieren. Da er auch über Gelenkschmerzen klagt überweise ich ihn zur weiteren Abklärung zum Orthopäden.

- Eine Bestimmung der SRP-Antikörper ist aufgrund des zytoplasmatischen Fluoreszenzmusters im IIFT nicht indiziert.
- Aufgrund der negativen Kernfluoreszenz im IIFT sollte ein ELISA oder Immunoblot auf Mi-2 durchgeführt werden.

Welche Antwort zu Ro-Antikörpern ist richtig?

- Sie sind gegen 52kD- und/oder 100kD- Antigene gerichtet.
- Sie kommen bei subakutem kutanem Lupus nur selten vor.
- Sie werden fast nie in Abwesenheit von La-Antikörpern gefunden.
- Sie sind mit Lupus bei genetischem C2-Mangel assoziiert.
- Sie verursachen ein kongenitales Sjögren-Syndrom.

Welche Antwort zum ANA-Screeningtest ist richtig?

- Er sollte initial mittels ELISA erfolgen.
- Er ist sehr spezifisch und wenig sensitiv.
- Er wird am besten als IIFT-Test auf Crithidien durchgeführt.
- Er ist musterunabhängig mit Angabe der Titerstufe zu be-funden.
- Er hängt hinsichtlich seines positiven prädiktiven Wertes von einer möglichst eng eingegrenzten Vorauswahl kollagenoseverdächtiger Probanden ab.

Für viele Kollagenosen werden typische Autoantikörper beschrieben. Welche Assoziation

zwischen Antikörpernachweis und Erkrankung trifft zu?

- Ku – Overlap zwischen primä-r biliärer Zirrhose und SLE
- U1-snRNP – Sharp-Syndrom (MCTD)
- Sm-AK – undifferenzierte Kollagenose
- Pm-Scl/PM-1 – Sjögren Syn-drom
- Ro – Sklerodermie

Bei vielen Kollagenosen lassen sich multiple Autoantikörper nachweisen. Welche Autoantikörperkombination ist im klinischen Alltag wahrscheinlich?

- 68kD-RNP positiv und U1-RNP negativ
- Jo-1 positiv und Ro positiv
- Mi-2 positiv und Jo-1 positiv
- La positiv und Ro negativ
- Sm, U1-nRNP, Ro, La und Scl-70 alle positiv

Nicht spezifisch für den SLE ist der Antikörper gegen:

- Sm.
- dsDNS.
- Ribosomales Protein P.
- SRP.
- PCNA.

Ein wahrscheinlich methodisch fehlerhaftes (unplausibles) Autoantikörperprofil liegt vor bei folgender Konstellation:

- Sm positiv und Ro positiv.
- DsDNA positiv und Sm positiv.
- DsDNA positiv und U1-nRNP negativ.
- Scl-70 positiv und CENP-B positiv.
- Jo-1 positiv und dsDNA negativ.



Welches der aufgeführten Antikörperprofile ist für die jeweils zugeordnete Erkrankung *nicht* charakteristisch?

- Sjögren-Syndrom: α-Fodrin positiv und Ro positiv.
- SLE: Sm negativ und dsDNA positiv.
- SLE: U1–70kD-nRNP positiv und dsDNA positiv.
- Undifferenzierte Kollagenose: Ro positiv und La negativ.
- Polymyositis: Mi-2 positiv und PM-Scl positiv.

Diese Fortbildungseinheit ist 12 Monate auf CME.springer.de verfügbar.

Den genauen Einsendeschluss erfahren Sie unter CME.springer.de