

ANCA-Diagnostik bei Vaskulitis

Einführung

Die Bestimmung von antineutrophilen zytoplasmatischen Antikörpern (ANCA) ist Bestandteil der Abklärung systemischer Vaskulitiden, insbesondere der ANCA-assoziierten Vaskulitiden (AAV). Dazu gehören die Granulomatose mit Polyangiitis (GPA, früher Wegener-Granulomatose), die mikroskopische Polyangiitis (MPA) und die eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (EGPA, früher Churg-Strauss-Syndrom). AAV sind seltene Erkrankungen unklarer Pathogenese mit einer Inzidenz von 0,2-1/100.000 pro Jahr in Deutschland und betreffen kleine bis mittelgroße Gefäße. Typische Manifestationen sind: hämorrhagische Alveolitis, Glomerulonephritis, pulmonales Syndrom, chronisch destruktive Erkrankung des oberen Respirationstrakts, Subglottis-Stenose, pulmonale Rundherde, Hautvaskulitis, retroorbitale Granulome, Asthma und Mono neuritis multiplex.

Labordiagnostik

Indirekte Immunfluoreszenz (IF). Bei der IF wird die Reaktion des Patientenserums mit Ethanol- bzw. Formalin-fixierten Neutrophilen auf Objektträgern am Fluoreszenzmikroskop qualitativ beurteilt. Zwei typische Muster in Ethanol-fixierten Neutrophilen werden unterschieden (Abb. 1): **C-ANCA** mit einer grobgranulären Fluoreszenz des gesamten Zytoplasmas und Betonung zwischen den Kernsegmenten und **P-ANCA** mit perinukleärer Fluoreszenz, die aus einer fixationsbedingten Verlagerung der Autoantigene vom Zytoplasma in den perinukleären Bereich resultiert. Bei Vorliegen einer feingranulären zytoplasmatischen Fluoreszenz ohne perinukleäre Betonung oder bei Mischmustern von C- und P-ANCA wird die Bezeichnung atypische ANCA (A-ANCA) benutzt. Die Verwendung von Formalin-fixierten Neutrophilen unterstützt die Muster-Differenzierung sowie die Abgrenzung von antinukleären Antikörpern (ANA). Hier zeigen C- und P-ANCA ein zytoplasmatisches Muster, während ein nukleäres Muster für einen ANA spricht.

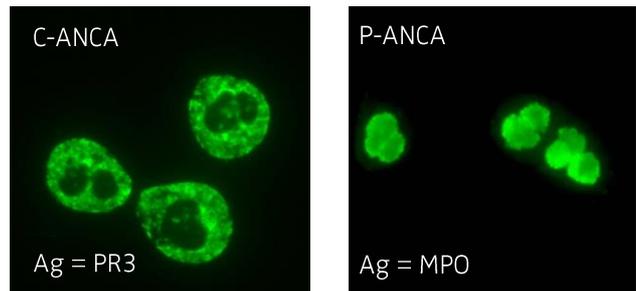


Abb. 1: ANCA-IF-Muster in Ethanol-fixierten Neutrophilen

Immunassay. Die wichtigsten Zielantigene der ANCA befinden sich in den primären Granula von Neutrophilen: Proteinase-3 (PR3) für C-ANCA und Myeloperoxidase (MPO) für P-ANCA. Andere ANCA-Spezifitäten wie z.B. Elastase oder Laktoferrin spielen in der Diagnostik von Vaskulitiden keine Rolle, daher wird ihre gezielte Untersuchung hierzu nicht empfohlen.

Antikörper gegen PR3 und MPO werden durch ELISA quantitativ bestimmt. Die ELISA der 3. Generationen besitzen eine hohe Sensitivität und Spezifität durch bessere Konservierung der Antigenstruktur. Andere Immunassays wie Chemiluminiszenz, Beads-Immunassays oder Line-Immunassay haben bisher keine breite Verwendung in der ANCA-Diagnostik gefunden.

ANCA-Bewertung. Ein negativer ANCA-Befund schließt das Vorliegen einer AAV nicht aus. Insbesondere im häufig lokalisierten Initialstadium sind ANCA seltener zu finden als im Generalisationsstadium. Umgekehrt ist ein positiver ANCA ohne entsprechenden klinischen bzw. histologischen Befund von fraglicher Bedeutung.

Antikörper gegen PR3 (C-ANCA) sind typisch für die GPA. In der initialen Phase sind etwa 40-50% der Fälle und in der generalisierten Phase etwa 90% positiv. Anti-PR3-Ak sind aber auch bei etwa 15-20% der MPA und bei <10% der EGPA nachweisbar. Antikörper gegen MPO (P-ANCA) werden hauptsächlich bei der MPA (65-90% der Fälle) sowie EGPA (ca. 40% der Fälle) und nur selten bei der GPA (<10%) nachgewiesen.

Die Korrelation zwischen ANCA-Konzentration und klinischer Aktivität bzw. Wahrscheinlichkeit eines Relapse wird weiterhin kontrovers diskutiert. Daher sollten Therapieentscheidungen primär vom klinischen Verlauf und nicht vom ANCA-Befund abhängig gemacht werden. Allerdings kann beim einzelnen Patienten bei Titeranstieg eine engmaschigere klinische Kontrolle sinnvoll sein, um eine mögliche Verschlechterung frühzeitig zu erkennen. Umgekehrt sollte das Monitoring im Fall intensiver Therapien (z.B. Plasmapherese) durch häufigere ANCA-Untersuchungen ergänzt werden.

Laborstrategien in der ANCA-Diagnostik. Die ANCA-Diagnostik sollte auf Patienten mit klinischem Verdacht auf AAV beschränkt werden, da der gelegentliche Nachweis von ANCA bei anderen Erkrankungen unnötige Folgeuntersuchungen und Kosten verursacht und die Diagnosefindung erschweren kann. So können ANCA bei etwa 10% der Kollagenosen, bei subakuter bakterieller Endokarditis oder nach bestimmten Medikamenten (z.B. Propylthiouracil) nachgewiesen werden. Bei Autoimmunerkrankungen der Leber sowie chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen findet man ANCA in der IF, die aber meistens PR3- bzw. MPO-Ak negativ sind und keiner weiteren Abklärung der Antigenspezifität mittels Immunassays bedürfen.

Die derzeit gültigen internationalen Konsensus-Leitlinien zur ANCA-Diagnostik von Vaskulitiden empfehlen initial einen Immunfluoreszenztest, gefolgt von einer Bestätigung mittels Immunassay. Alternativ ist eine gleichzeitige Durchführung von IF und Immunassays möglich. In den meisten Fällen ist aber die Durchführung von PR3- bzw. MPO-Ak Immunassays ohne IF ausreichend (Damoiseaux et al.).

In den letzten Jahren wurden Kombinationsassays aus zellbasierter Immunfluoreszenz und spezifischem Festphasenassay entwickelt, die eine simultane Screening- und Bestätigungsuntersuchung von ANCA mittels Computergestützter Immunfluoreszenz-Mikroskopie ermöglichen. Solche Systeme erlauben eine qualitative und quantitative ANCA-Bestimmung und könnten in Zukunft die Stufendiagnostik ersetzen.

Weitere Informationen:

Dr. Jose-Bernardino González

Dr. Christian Meisel

Fachbereich

Autoimmundiagnostik

Tel.: +49 (30) 40 50 26 450

Autoimmun@laborberlin.com



Das Wichtigste auf einen Blick

- Die Untersuchung von PR3- und MPO-ANCA ist primär beim Verdacht auf AAV indiziert, eine Abklärung von anderen ANCA wird dagegen nicht empfohlen.
- Die beste diagnostische Performance erreicht man durch eine Kombination von IF und Immunassay für Antikörper gegen PR3 (C-ANCA) und MPO (P-ANCA).
- Steht die IF nicht zur Verfügung, sind robuste Immunassays meist ausreichend.
- Die Untersuchung von ANCA im Verlauf sollte immer individuell erfolgen und kann in Einzelfällen für therapeutische Entscheidungen berücksichtigt werden.

Literatur

- 1) Csernok E, ANCA testing: the current stage and perspectives. *Clin Exp Nephrol* (2013) 17:615–618.
- 2) Csernok E and Moosig F. Current and emerging techniques for ANCA detection in vasculitis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014. Vol.10: 494-501.
- 3) Radice A, et al Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies: Methodological aspects and clinical significance in systemic vasculitis. *Autoimmun Rev.* 2013 Feb; 12(4):487-95.
- 4) Avery TY et al. Diagnostic ANCA algorithms in daily clinical practice: evidence, experience and effectiveness. *Lupus* (2016) 25, 917–924.
- 5) Damoiseaux J, et al. Detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCAs): a multicentre European Vasculitis Study Group (EUVAS) evaluation of the value of indirect immunofluorescence (IIF) versus antigen-specific immunoassays. *Ann Rheum Dis.* (2016).

Impressum

Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH, Sylter Straße 2, 13353 Berlin
 Tel. +49 (30) 405026-100 • E-Mail: bulletin@laborberlin.com
 Verantwortliche im Sinne des Medienrechts: Nina Beikert
 Redaktion: Jose-Bernardino González, Christian Meisel
 Veröffentlicht: Berlin, 07. September 2016