

# Immunologische Diagnostik in der Gastroenterologie und Hepatologie

### Zusammenfassung

Immunologische Untersuchungen bei chronischen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts und der Leber erlauben die Differenzierung von infektiösen/postinfektiösen und klassischen Autoimmunerkrankungen und haben daher für die Diagnose, Differenzialdiagnose und Therapie große Bedeutung erlangt. Spezifische und diagnostisch relevante Autoantikörper lassen sich, z.B. bei der chronisch atrophischen Gastritis, der Sprue/Zöliakie, der autoimmunen Hepatitis und der primär biliären Zirrhose, nachweisen; auch bei der primär sklerosierenden Cholangitis sowie den chronisch entzündlichen Darm-erkrankungen Colitis ulcerosa und Morbus Crohn kommen Autoantikörper vor, die aber nicht so sensitiv und spezifisch sind, dass sie die invasiven Methoden (z.B. Biopsie, ERCP) ersetzen könnten. Für die Interpretation eines Autoantikörperbefunds ist aber immer die Kenntnis der Nachweismethode hinsichtlich Spezifität und Sensitivität und der klinischen Problematik ausschlaggebend. Bei der Diagnose medikamentös allergischer Lebererkrankungen kann ebenfalls die Bestimmung von Antikörpern hilfreich sein oder der *in-vitro*-Nachweis sensibilisierter Lymphozyten mittels eines Lymphozytenstimulationstests.

### Schlüsselwörter

**Autoantikörper | Immunfluoreszenztest | ELISA | Westernblot | Lymphozyten-  
transformationstest | chronisch atrophische Gastritis/ perniziöse Anämie |  
Colitis ulcerosa | Morbus Crohn | Sprue/Zöliakie | autoimmune Hepatitis |  
primär biliäre Zirrhose | primär sklerosierende Cholangitis | Virushepatitis**

Frau Prof. Dr. R. Klein  
Medizinische Klinik II  
Universitätsklinikum Tübingen  
Otfried-Müller-Str. 10  
72076 Tübingen



Fragebeantwortung unter

[www.falkfoundation.de](http://www.falkfoundation.de)

**Falk Gastro-Kolleg**

# Immunologische Diagnostik in der Gastroenterologie und Hepatologie

## Einleitende Vorbemerkungen zur Problematik von Autoantikörperbestimmungen und ihrer klinischen Interpretation

Serologische/immunologische Untersuchungen haben in den letzten Jahren große Bedeutung für die Diagnose, Differenzialdiagnose und Therapie, insbesondere von chronischen Leber- und Gallengangserkrankungen, aber auch anderen chronisch entzündlichen Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts erlangt.

Mithilfe eines großen Spektrums von verschiedenen Autoantikörpern können infektiöse bzw. postinfektiöse und klassische autoimmune Prozesse differenziert werden. Innerhalb der Autoimmunerkrankungen wiederum erlauben sie die Differenzierung von Subspezifitäten. Nicht selten sind auch 2 verschiedene Autoimmunerkrankungen assoziiert, und auch hier kann die Serologie zur Erkennung solcher „Überlappungssyndrome“ beitragen.

Spezifische Autoantikörper sind oft bereits zu einem Zeitpunkt nachweisbar, wenn Klinik und Morphologie noch keine eindeutigen Aussagen zulassen.

Autoimmunität ist primär ein physiologischer Zustand und Autoantikörper sind ein wichtiger Bestandteil des natürlichen Immunsystems. Ihre Funktion besteht in der *first-line defense* gegenüber Erregern, in der Beseitigung alternder Zellen bzw. alterierter Autoantigene und daraus resultierend im Schutz des Organismus vor der Induktion pathologischer Autoimmunreaktionen.

Diese natürlichen Autoantikörper sind nicht nur – wie früher angenommen – vom IgM-, sondern auch vom IgG-Typ; sie sind polyreaktiv und vor allem gegen Zytoskeleto- und Basalmembranantigene gerichtet, aber auch antinukleäre Antikörper (ANA) gehören zu diesen natürlichen Autoantikörpern. Bei einer unspezifischen Aktivierung des Immunsystems, wie z.B. bei viralen (z.B. Epstein-Barr-Virus, Zytomegalie-Virus, Hepatitis-B- und -C-Virus), bakteriellen (z.B. Mykobakterien, Streptokokken, Enterobakterien) und parasitären Erkrankungen (z.B. Malaria, Leishmaniose) oder auch toxischen Prozessen (Alkohol, Medikamente), kann ihre Synthese stark stimuliert werden.

Häufig haben die natürlichen und die mit einer Autoimmunerkrankung in Verbindung stehenden „echten“ Autoantikörper sehr ähnliche Antigenspezifitäten, sodass ihre für die Diagnose einer Autoimmunerkrankung so wichtige Differenzierung schwierig sein kann. Der Einsatz definierter Antigene oder bestimmter Methoden ist dann hilfreich.

Ein positiver Autoantikörperbefund ist also nicht mit einer Autoimmunerkrankung gleichzusetzen; für die Interpretation und auch die Therapie ist immer die klinische Ausgangslage entscheidend.

► **Ein positiver Autoantikörperbefund ist nicht mit einer Autoimmunerkrankung gleichzusetzen.**

## Die wichtigsten Methoden zum Nachweis von Antikörpern

Die wesentlichen Methoden zum Nachweis von Autoantikörpern mit ihren Vor- und Nachteilen sind in [Tabelle 1](#) aufgeführt.

Tab. 1

### Methoden zum Nachweis von Autoantikörpern bei chronisch entzündlichen Erkrankungen

Nachweis-methode	Substrat	Indikation	Vorteile	Nachteile
Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT)	Gefrierschnitte von Organen der Ratte oder Maus (z. B. Leber, Niere, Herz, Magen)	Screening zum Nachweis organunspezifischer Autoantikörper (z. B. bei autoimmunen Lebererkrankungen)	Nachweis eines ganzen Spektrums von Autoantikörpern in einem Ansatz, gute Sensitivität, sehr gute Spezifität	Große Erfahrung notwendig zur Interpretation der Fluoreszenzmuster, hohe Subjektivität, Subspezifitäten von Antikörpern (z. B. von ANA) können nicht differenziert werden
	Zell-Linien (z. B. Hep2-Zellen)	Vor allem zum Nachweis verschiedener ANA-Spezifitäten geeignet	Sensitive Methode zum Nachweis von ANA, Differenzierung von Kernantigenen möglich	Erfahrung notwendig in der Beurteilung der ANA-Muster; erfasst relativ häufig natürlich vorkommende ANA ohne klinische Relevanz
ELISA	Gereinigte Antigene	Heute für sehr viele Autoantikörper verfügbar	Hohe Sensitivität, einfache Durchführbarkeit, gute Standardisierbarkeit, objektive Messmethode	Falsch-positive Reaktionen häufig, da niedrigtitrige und niedrigaffine natürliche Autoantikörper erfasst werden können sowie auch Antikörper gegen evtl. in den Antigenfraktionen noch vorhandene Kontaminationen
	Rekombinante Antigene	Z. B. ANA- oder AMA-Subspezifitäten, molekularbiologisch definierte Autoantigene		Sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Reaktionen möglich: falsch-positiv: niedrigtitrig vorhandene natürliche Autoantikörper werden erfasst oder Reaktionen mit noch evtl. aus den Produktionsmechanismen vorhandenen Antigenen (z. B. bei Expression in Bakterien); falsch-negativ: rekombinante Antigene sind meist linear, Autoantikörper jedoch häufig gegen Konformationsantigene gerichtet, ferner reagieren Autoantikörper oft mit mehreren Determinanten eines Antigens, rekombinante Antigene repräsentieren aber nur eine Determinante
Radioimmunoassay (RIA)	Antigenextrakte	Heute meist vom ELISA abgelöst; überwiegend zum Nachweis von Anti-Rezeptorantikörpern eingesetzt	Hohe Sensitivität und Spezifität	Arbeiten mit Radioaktivität; Qualität des Testes abhängig von der Qualität der radioaktiv markierten Antikörper
Westernblot	Antigenfraktionen, gereinigte Antigene	ANA- und AMA-Spezifitäten	Erlaubt die Differenzierung verschiedener Antigen-determinanten, gute Sensitivität und Spezifität	Aufwendige Methode; Erfahrung notwendig in der Interpretation der Befunde, falsch-positive Reaktionen möglich, da natürlich vorkommende Autoantikörper erfasst oder Antigene mit sehr ähnlichen Molekulargewichten nicht differenziert werden können; falsch-negative Reaktionen; Antigene können durch die beim Westernblot notwendige SDS-Behandlung zerstört werden, konformations-spezifische Antikörper werden nicht erfasst
Dot blot	Verschiedene rekombinante Antigene	Nachweis verschiedener ANA- oder AMA-Spezifitäten	Erlaubt den raschen Nachweis verschiedener Antikörper in einem Ansatz, gute Sensitivität und Spezifität	s. ELISA; nur semiquantitative Aussagen möglich
Komplement-bindungsreaktion (KBR)	Gewebeextrakte, gereinigte Antigenfraktionen	AMA-Subspezifizierung, früher auch ANA-Nachweis	Sehr hohe Spezifität, da natürlich vorkommende Antikörper nicht Komplement-bindend sind; Titerangaben möglich	Aufwendige Methode, hohe Antigenkonzentrationen notwendig, geringe Sensitivität, rekombinante Antigene können nicht eingesetzt werden
Radiale Immundiffusion	Gewebeextrakte	Nachweis von ANA-Subspezifitäten, früher auch von Antikörpern gegen zytoplasmatische Antigene	Sehr hohe Spezifität, natürlich vorkommende Antikörper präzipitieren nicht	Erfahrung notwendig beim Ablesen von Präzipitationslinien, hohe Antigen- und Serum-mengen erforderlich, geringe Sensitivität, keine Titerangaben möglich

Der *indirekte Immunfluoreszenztest (IFT)* an Gefrierschnitten wird bereits seit über 50 Jahren eingesetzt und zählt auch heute noch zu den bewährten Methoden zum Screening von Autoantikörpern. Meist können hierfür heterologe Organe (z. B. der Ratte) verwendet werden. Die Testung von Patientenseren gegen verschiedene Organe in einem Ansatz (z. B. Leber, Niere, Herz, Magen) erlaubt den Nachweis eines ganzen Spektrums von Autoantikörpern und auch die Differenzierung von natürlichen Autoantikörpern, z. B. gegen Bindegewebsstrukturen, von krankheitsrelevanten Antikörpern, wie z. B. gegen Kernstrukturen oder zytoplasmatische Antigene (Mitochondrien, Mikrosomen).

Heute wird der *IFT* zunehmend an *Zellkulturen* (z. B. *Hep2-Zellen*), d. h. an sich teilenden Zellen, durchgeführt. Er erlaubt die Erkennung zusätzlicher Kernantigensysteme, allerdings werden mit dieser Methode nicht selten auch unspezifisch stimulierte Kernantikörper erfasst (z. B. bei einer Infektion).

Seitdem viele Targetantigene auf molekularer Ebene identifiziert werden konnten, werden zunehmend *ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)-Methoden* oder *Dot blots* unter Verwendung gereinigter oder rekombinanter Antigene eingesetzt.

Beim *Radioimmunoassay (RIA)* werden im Gegensatz zum ELISA radioaktiv markierte Liganden eingesetzt. Der Test basiert auf einer Kompetitionsreaktion zwischen dem markierten und dem unmarkierten Antikörper um das Antigen. In den letzten Jahren wurde der RIA zugunsten anderer nicht-radioaktiver Assays zunehmend ersetzt.

Im *Westernblot* lassen sich Targetantigene von Autoantikörpern durch die elektrophoretische Auftrennung von Proteinen noch besser spezifizieren. Die Methode wird vor allem als Bestätigungstest eingesetzt.

Leider kaum mehr verwendet in der immunologischen Diagnostik werden heute die *Komplementbindungsreaktion (KBR)* und die *radiale Immundiffusion*, weil sie relativ insensitiv und aufwendig sind. Beides sind aber hochspezifische Methoden, d. h. der Nachweis von Komplement-bindenden oder präzipitierenden Antikörpern darf fast als Beweis der korrespondierenden Autoimmunerkrankung angesehen werden.

Immunologische Phänomene in der Gastroenterologie und Hepatologie werden insbesondere bei der chronisch atrophischen Gastritis bzw. perniziösen Anämie, den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa, Morbus Crohn) sowie der Zöliakie/Sprue, und bei autoimmunen Lebererkrankungen (autoimmune Hepatitis, primär biliäre Zirrhose, primär sklerosierende Cholangitis) beobachtet. Ihre diagnostische Wertigkeit ist aber sehr differenziert zu betrachten. Ferner sollte man daran denken, dass auch bei medikamentös allergischen Erkrankungen (insbesondere der Leber) immunologische Methoden in der Diagnostik hilfreich sein können.

### **Chronisch atrophische Gastritis/perniziöse Anämie**

Ursprünglich wurde zwischen der Typ-A- (autoimmun) und Typ-B-Gastritis (bakteriell) unterschieden; inzwischen ist aber bekannt, dass bei beiden Formen Autoantikörper vorkommen [1]. Die chronisch atrophische Gastritis kann evtl. in Form einer perniziösen Anämie klinisch manifest werden, die Latenzzeit kann aber 20–30 Jahre betragen [2].

2 Formen von Autoantikörpern werden beobachtet: die Antikörper gegen die  $H^+/K^+$ -ATPase der Parietalzellen sowie Antikörper gegen den Intrinsic-Faktor.

*Antikörper gegen Parietalzellen* werden überwiegend mittels IFT an Gewebeschnitten bestimmt. Die Antikörper sind bei allen Patienten mit autoimmuner Gastritis, ca. 90% der Patienten mit perniziöser Anämie, 2–5% der Normalbevölkerung und bei ca. 30% der Patienten mit autoimmuner Thyreoiditis und Diabetes mellitus Typ I nachweisbar. Mit dem Progress der autoimmunen Gastritis und der Abnahme der Parietalzellen nimmt die Häufigkeit der Antikörper ab, möglicherweise als Folge des Antigenverlusts.

► **Der indirekte Immunfluoreszenztest an Gewebeschnitten verschiedener Organe von Ratte oder Maus ist die Methode der Wahl zum Screening auf Autoantikörper.**

Innerhalb der Normalbevölkerung ist ein altersabhängiger Anstieg der Häufigkeit der Antikörper zu beobachten: Sie sind bei ca. 2,5% der Personen im 30. und bei 9,6% der Personen im 80. Lebensjahr nachweisbar. Antikörper gegen Parietalzellen wurden auch in Seren gesunder Angehöriger von Patienten mit perniziöser Anämie gefunden [2].

Das Targetantigen der Antikörper gegen Parietalzellen ist die  $H^+/K^+-ATPase$ , die verantwortlich ist für die Sekretion von  $H^+$ -Ionen durch die Parietalzellen im Austausch gegen  $K^+$ -Ionen und somit für den sauren pH-Wert des Magensafts.

Obwohl die Antikörper gegen Parietalzellen Komplement-bindend sind und *in vitro* Parietalzellen lysieren können, ist unklar, ob sie auch *in vivo* pathogenetische Bedeutung haben, da die  $H^+/K^+-ATPase$  im Magen nicht für die Antikörper akzessibel ist.

Antikörper gegen den *Intrinsic-Faktor* treten meist erst im Verlauf einer chronisch atrophischen Gastritis nach den Parietalzellantikörpern auf. Sie sind bei 40–60% der Patienten mit perniziöser Anämie zu beobachten, mit längerer Krankheitsdauer nimmt auch ihre Häufigkeit zu (60–80%) [2].

Ihre prognostische Bedeutung ist aber noch ungewiss, da zwischen dem Beginn einer atrophischen Gastritis und der Entwicklung einer perniziösen Anämie 20–30 Jahre liegen können.

Der Intrinsic-Faktor ist ein 50-kDa-Glykoprotein, das von Parietalzellen des Magens sezerniert wird. Jedes Molekül bindet ein Molekül Vitamin  $B_{12}$ . Nur der Komplex Intrinsic-Faktor/Vitamin  $B_{12}$  kann durch Bindung an Cubulin-Rezeptoren im terminalen Ileum resorbiert werden. Die Antikörper gegen Intrinsic-Faktor können daher mit der Resorption des Vitamin  $B_{12}$  im terminalen Ileum interferieren.

Der Nachweis der Antikörper gegen Intrinsic-Faktor erfolgte früher überwiegend mittels RIA, diese Methode wurde aber mittlerweile weitgehend durch ELISA-Methoden ersetzt. Allerdings ist die Spezifität und Sensitivität der kommerziell erhältlichen ELISA-Tests noch unbekannt.

## Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Colitis ulcerosa, Morbus Crohn) und der Sprue/Zöliakie können immunologische Untersuchungen in der Diagnose/Differenzialdiagnose hilfreich sein.

Antinukleäre Antikörper (ANA) können bei allen diesen Erkrankungen als Ausdruck der autoimmunen Disposition positiv sein, haben aber keine diagnostische Bedeutung.

Die **Colitis ulcerosa** ist eine unspezifische entzündliche Erkrankung des Kolons, die sich vom Rektum aus kontinuierlich oralwärts ausbreiten kann. Die Abgrenzung von einem M. Crohn des Dickdarms kann in den Anfangsstadien problematisch sein, sodass in 10–20% der Kolitiden eine Zuordnung zu einer der Erkrankungen zunächst nicht möglich ist (Colitis indeterminata). Die Ätiologie der Colitis ulcerosa ist nicht bekannt. Aufgrund des Nachweises von Autoantikörpern wird sie heute zu den Autoimmunerkrankungen gerechnet.

Bereits 1959 wurden bei Patienten mit Colitis ulcerosa in der Immundiffusion unter Verwendung von humanem Kolongewebe *Antikörper gegen Becherzellen (anti-intestinal goblet cell autoantibodies, GAB)* beobachtet, später wurden sie im IFT an verschiedenen Darmgeweben nachgewiesen. Die diagnostische Sensitivität und Spezifität der GAB hängt stark von der Nachweismethode ab [3]. Als Targetantigen wurde ein *epitheliales 40-kDa-Protein des Dickdarms* aus der entzündlich veränderten Kolon-schleimhaut von Patienten mit Colitis ulcerosa identifiziert. Dieses 40-kDa-Protein wird im Dickdarm, in der Haut, in Gelenken und Gallengangsepithelien exprimiert und konnte als humanes Tropomyosin Isoform 5 definiert werden [4]. Unter optimalen

► **Antikörper gegen Parietalzellen reagieren mit der  $H^+/K^+-ATPase$  und sind ein spezifischer und sensitiver Indikator für das Vorliegen einer chronisch atrophischen Gastritis. Der zusätzliche Nachweis von Antikörpern gegen den Intrinsic-Faktor könnte auf die Entwicklung einer perniziösen Anämie hinweisen.**

Bedingungen liegt die diagnostische Spezifität bei bis zu 100%, die Sensitivität allerdings nur bei 28%, die Antikörper wurden aber in den letzten Jahren nicht mehr intensiv untersucht [3].

Großes Interesse gilt dagegen den *Antikörpern gegen Neutrophile/Granulozyten (anti-neutrophilic cytoplasmic antibodies, ANCA)*. Diese werden mittels IFT an humanen Granulozyten nachgewiesen und ergeben dort eine perinukleäre Fluoreszenz (*pANCA*). Sie kommen bei Patienten mit Colitis ulcerosa viel häufiger vor (32–83%) als bei Patienten mit M. Crohn (2–25%). Sensitivität und Spezifität hängen stark von der Nachweismethode und der Qualität der verwendeten humanen Granulozyten ab [3, 5, 6]. Ein Haupt-Targetantigen konnte bisher nicht identifiziert werden; Laktoferrin, das *bactericidal/permeability-increasing-Protein*, Cathepsin G, Elastase, Lysozym und  $\beta$ -Glucuronidase wurden in Betracht gezogen, konnten aber nicht als spezifisch eingestuft werden.

Der **Morbus Crohn** ist eine transmurale Entzündung vorwiegend des Magen-Darm-Trakts mit Neigung zu Fistelbildungen, Abszedierungen und der Ausbildung von narbigen Stenosen. Die Genese ist unbekannt, eine überschießende Immunantwort auf normale oder pathogene Darmantigene wird diskutiert.

Klassische Autoimmunphänomene lassen sich beim M. Crohn nicht beobachten. *pANCA* kommen nur bei einem geringen Prozentsatz vor [3, 5, 6]. 60–80% der Patienten mit M. Crohn haben *Antikörper gegen Saccharomyces cerevisiae (ASCA)* (Bäckerhefe), bei der Colitis ulcerosa kommen sie in 10–15% der Fälle vor [7]. Die Ursache für die Bildung dieser Antikörper gegen dieses nicht-pathogene Agens ist unbekannt. *ASCA* kommen auch bei Patienten mit Zöliakie vor, sodass eine Induktion durch Nahrungsmittel diskutiert wird.

Da *pANCA* beim M. Crohn und *ASCA* bei der Colitis ulcerosa nur selten vorkommen, wurden in Studien beide Testsysteme kombiniert und es wurde gezeigt, dass die Kombination *pANCA*-positiv/*ASCA*-negativ hochspezifisch ist (95–100%) für die Diagnose einer Colitis ulcerosa, während die Konstellation *pANCA*-negativ/*ASCA*-positiv hochspezifisch (95–100%) ist für den M. Crohn [7]. Die Sensitivität dieser Tests ist aber zu gering, um allgemein eingesetzt zu werden, sie könnten aber bei der Differenzialdiagnose einer Colitis indeterminata hilfreich sein.

Die **einheimische Sprue**, in der Pädiatrie meist als **Zöliakie** bezeichnet, ist eine mit Malabsorption und Diarrhö einhergehende Erkrankung des Dünndarms, die durch Glutensensitivität und eine typische, aber unspezifische Zottenatrophie charakterisiert ist. Sie wird meist bereits im Kleinkindalter manifest, kann jedoch auch im Erwachsenenalter erstmals auftreten. Sie ist ein ungewöhnliches Beispiel, wie durch einen exogenen Faktor – in diesem Falle einen Nahrungsmittelbestandteil – Autoimmunreaktionen ausgelöst werden können [8, 9]. Die wichtigste Therapie ist die Vermeidung Gluten-haltiger Nahrungsmittel.

Die Erkrankung ist genetisch determiniert; 95% der Patienten sind HLA-DQ2- oder HLA-DQ8-positiv. Ferner besteht bei monozygoten Zwillingen eine Konkordanz von 75% [8, 9].

Die Diagnose stützt sich bisher besonders auf die Histologie. In den letzten Jahren wurden aber zunehmend nicht-invasive Tests entwickelt, die auch als Screening-Methoden eingesetzt werden können.

In einem der ersten Tests wurden *Antikörper gegen Retikulin* nachgewiesen. In der Folgezeit wurden *Antikörper gegen Gliadin* vom IgG- und IgA-Typ bestimmt, sowohl zur Diagnose als auch zur Verlaufskontrolle und zum Monitoring der Diät. Diese Antikörper sind aber nicht spezifisch, da Gliadin die normale Darmschleimhaut durchquert und ca. 5–10% der Normalbevölkerung Anti-Gliadin-Antikörper besitzen. IgA-Antikörper haben eine höhere Spezifität als IgG-Antikörper (81–100%), aber die Sensitivität ist vermindert (Angaben in der Literatur schwanken zwischen 30 und 100%) [9].

► *pANCA sind mit der Colitis ulcerosa assoziiert (32–83%, je nach Nachweismethode), sind aber keine spezifischen Markerantikörper.*

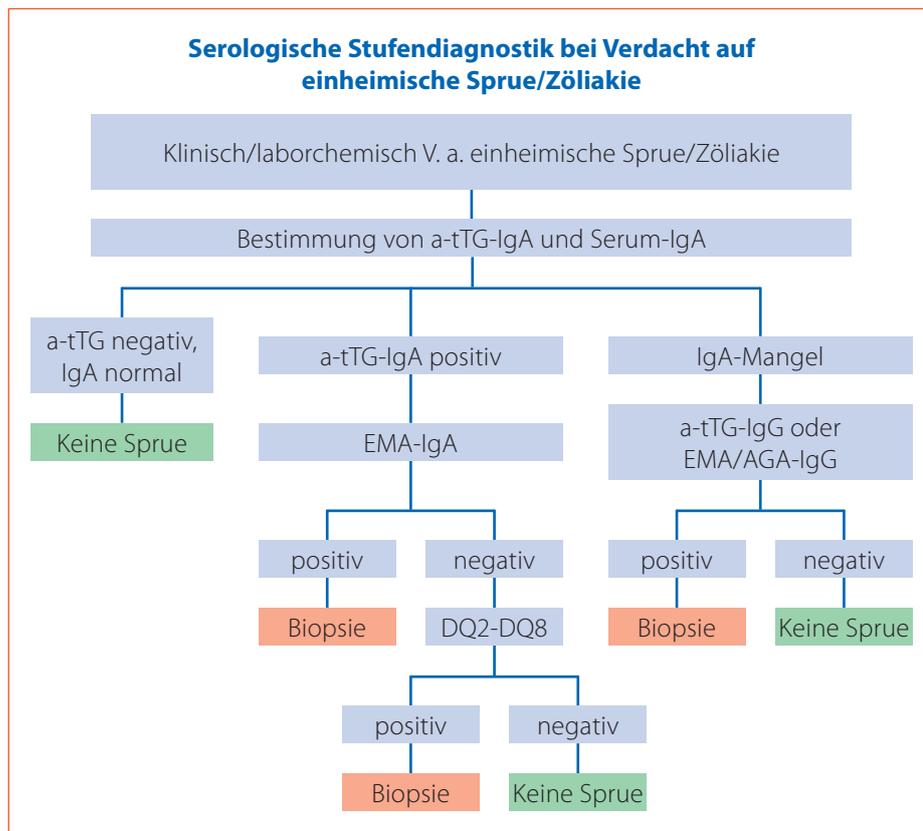
► *Der Nachweis von Autoantikörpern spielt beim M. Crohn keine Rolle in der Diagnose; bei 60–80% der Patienten kommen aber Antikörper gegen Saccharomyces cerevisiae (ASCA) vor.*

► *Die einheimische Sprue/Zöliakie ist eine Gluten-induzierte Autoimmunerkrankung.*

► *95% der Patienten mit Sprue/Zöliakie sind HLA-DQ2- oder HLA-DQ8-positiv.*

Die Bestimmung der Anti-Gliadin-Antikörper wurde daher in vielen Laboratorien durch den Nachweis von *Antikörpern gegen Endomysium (EMA)* im IFT am Affen-Ösophagus oder an der menschlicher Nabelschnur ersetzt (Abb. 1). Spezifität und Sensitivität der IgA-EMA für die Sprue sind sehr hoch (fast 100%). Der Test ist aber relativ teuer und aufwendig und die Interpretation subjektiv. Nachdem 1997 das Targetantigen der EMA als *Gewebe-Transglutaminase (tTG)* identifiziert wurde, war es möglich, ELISA-Methoden zu etablieren, die eine hohe Spezifität und Sensitivität aufweisen [8, 9]. Trotzdem gibt es zwischen den kommerziell erhältlichen Assays bisher noch große Unterschiede. Bei Kindern unter 5 Jahren kann die Bestimmung der Anti-Gliadin-Antikörper immer noch sinnvoll sein, da bei ihnen die Anti-tTG-Antikörper noch negativ sein können.

Bei Patienten mit Sprue sollten immer die IgA-Spiegel im Serum bestimmt werden, da bei ihnen häufig ein IgA-Mangel vorliegt, sodass die IgA-Antikörper negativ sind (Abb. 1).



► **Antikörper gegen Endomysium und Gewebe-Transglutaminase (tTG) vom IgA-Typ haben eine hohe Spezifität für die Sprue.**

Abb. 1

### Chronische Lebererkrankungen

Die Bestimmung von Autoantikörpern bei chronischen Lebererkrankungen erlaubt die Abgrenzung von hepatozellulären Erkrankungen (autoimmune Hepatitis, AIH) und Erkrankungen der Gallengänge (primär biliäre Zirrhose, PBC; primär sklerosierende Cholangitis, PSC) und ist auch in solchen Fällen hilfreich, wenn klinisch ein Anhalt für die gleichzeitige Manifestation von 2 verschiedenen autoimmunen Leberprozessen besteht [10, 11].

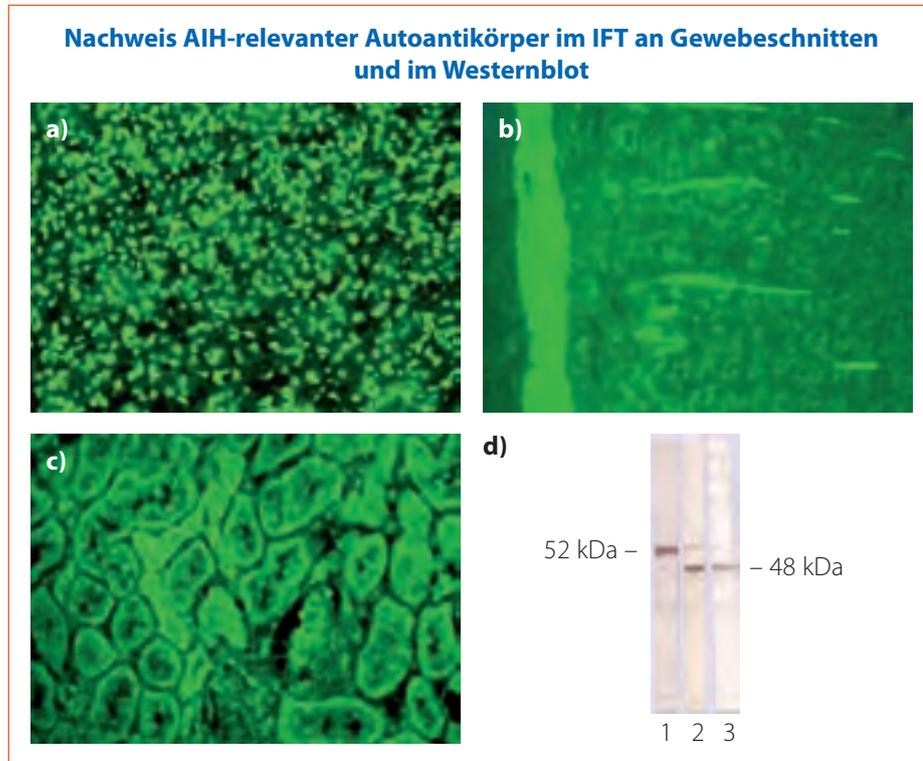
Wie bereits oben erwähnt, können aber auch im Rahmen von Virushepatitiden Autoantikörper unspezifisch aktiviert werden; diese sollte man von den AIH-assoziierten Antikörpern differenzieren, um eine (seltene) Assoziation des Virusprozesses mit einer AIH auszuschließen.

Die **autoimmune Hepatitis (AIH)** ist eine Erkrankung unklarer Ätiologie, die mit der Produktion einer Reihe von Autoantikörpern gegen nukleäre, zytoplasmatische und membranöse Antigene einhergeht [12], meist schubförmig verläuft und bevorzugt bei Frauen vorkommt. Biochemische Leitbefunde sind eine mäßig starke Erhöhung

► **Der Nachweis spezifischer Autoantikörper erlaubt die Abgrenzung von hepatozellulären Erkrankungen und Erkrankungen der Gallengänge (PBC, PSC) sowie die Erkennung von Überlappungssyndromen. Ferner sind sie bei viralen Hepatitiden bei der Differenzierung von Infekt-getriggerten und AIH-relevanten Autoantikörpern hilfreich.**

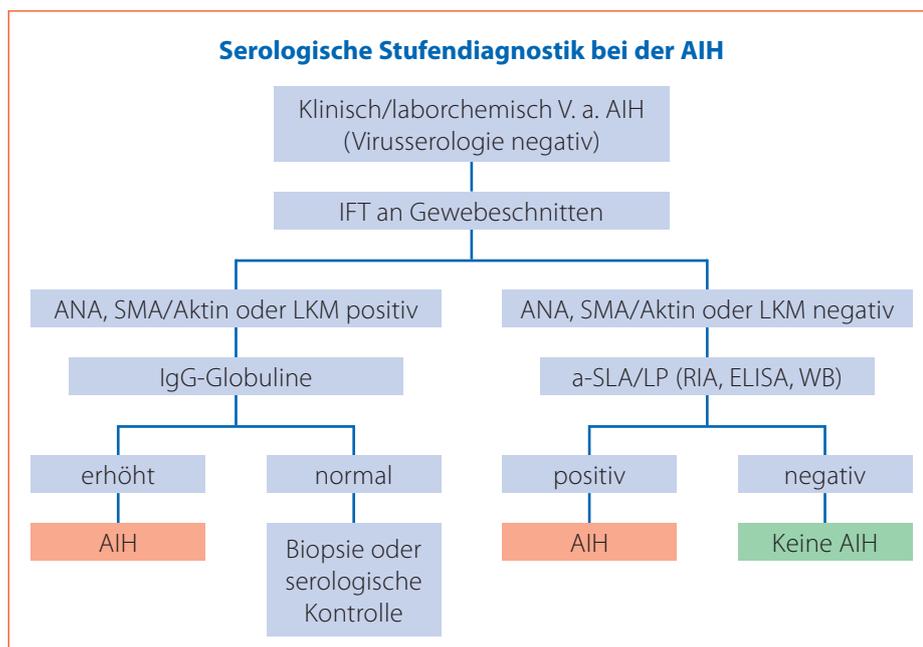
der Transaminasen und eine Hypergammaglobulinämie, die die IgG-Globuline betrifft. Morphologisch findet man das gesamte Spektrum der für eine chronische Hepatitis typischen Läsionen, von der chronisch persistierenden Hepatitis über akut nekrotisierende Schädigungen bis hin zur chronisch aggressiven Hepatitis und Leberzirrhose.

Für die Diagnose der AIH sind in erster Linie die Antikörper gegen Kerne (ANA), glatte Muskulatur (*smooth muscle antigen, SMA*), Leber-Nieren-Mikrosomen (*liver-kidney microsomes, LKM*), und das soluble-liver/Leber-Pankreas-Antigen (SLA/LP) von Bedeutung (Abb. 2, 3).



**Abb. 2**

a) Nachweis von ANA an Lebergewebe (Ratte); b) Nachweis von Antikörpern gegen glatte Muskulatur und Aktin (Rattenmagen); c) Nachweis von Anti-LKM1-Antikörpern an Rattenniere; d) Nachweis von Anti-LP-Antikörpern im Westernblot unter Verwendung eines Zytoplasmaextrakts aus der Rattenleber. 3 Anti-LP-positive Seren mit unterschiedlichen Reaktionsmustern sind dargestellt



**Abb. 3**

► Diagnostisch relevant bei der AIH sind ANA, SMA/Anti-Aktin-, Anti-LKM1- und Anti-SLA/LP-Antikörper zusammen mit einer IgG-Erhöhung.

*Antikörper gegen Kerne (ANA)* sind vorwiegend gegen ein Nukleoprotein (DNS-Histon) gerichtet und zeigen im IFT an Gewebeschnitten ein homogenes Fluoreszenzmuster ([Abb. 2a](#)) [12]. Nicht selten lassen sich bei den ANA-positiven AIH-Formen auch Antikörper gegen Doppelstrang-DNS erfassen.

*Antikörper gegen glatte Muskulatur (SMA)* haben meist *Anti-Aktin-Spezifität*, sind überwiegend vom IgG-Typ (SMA vom IgM-Typ kommen bevorzugt bei Virushepatitiden vor, s. u.) und Komplement-bindend. Im IFT an Gefrierschnitten ergeben sie ein typisches Muster an den Muskelzellen des Magens, wobei charakteristischerweise die *Interparietalzellsepten* deutlich gefärbt sind ([Abb. 2b](#)), sowie an der glatten Muskulatur der Gefäße in der Niere. Bei dem Antigen handelt es sich um F-Aktin mit einem Molekulargewicht von 41 kDa. Zuverlässige ELISA-Methoden zum Nachweis dieser Antikörper gibt es jedoch bisher nicht. Anti-Aktin-Reaktivität kann auch mit *in vitro* kultivierten Fibroblasten oder Vinblastin-behandelten peripheren Blutmonozyten bzw. Hep2-Zellen nachgewiesen werden, es ergibt sich aber keine absolute Korrelation mit den Anti-Aktin-Antikörpern im IFT an Gewebeschnitten.

*Antikörper gegen Leber-Nieren-Mikrosomen (liver-kidney microsomes, LKM1)* wurden erstmals 1973 beschrieben. Sie reagieren mit Mikrosomen aus Leber und Niere und zeigen im IFT an Gewebeschnitten eine starke zytoplasmatische Fluoreszenz der Hepatozyten und der proximalen Tubuli der Niere ([Abb. 2c](#)). Das Muster kann leicht mit einer mitochondrialen Fluoreszenz verwechselt werden (s. u.), jedoch sind Zellstrukturen anderer Organe (Parietalzellen, Herzmuskelfasern) negativ. Das Targetantigen ist Cytochrom P4502D6, das auch zum Nachweis der Antikörper mittels ELISA verwendet werden kann [12]. In seltenen Fällen können Anti-LKM-Antikörper auch bei Virushepatitiden beobachtet werden (s. u.). Innerhalb des Cytochrom P4502D6 konnten aber Epitope identifiziert werden, die ausschließlich von Seren von Patienten mit AIH, nicht jedoch von Seren von Patienten mit infektiösen Hepatitiden erkannt werden [12, 13].

*Antikörper gegen das soluble-liver/Leber-Pankreas-Antigen (Anti-SLA/LP)* können im Gegensatz zu den gerade beschriebenen Antikörpern nicht im IFT nachgewiesen werden. Sie wurden primär in der KBR mit einem Zytoplasmaextrakt aus Leber oder Pankreasgewebe (Anti-LP) [14] bzw. im RIA unter Verwendung eines löslichen Leberproteins (Anti-SLA) dokumentiert [15]. Bei Virushepatitiden kommen sie nicht vor. Targetantigen ist ein 52-kDa-Protein, das als ein UGD-suppressor-tRNA-assoziiertes Protein identifiziert wurde [16]. Allerdings können Anti-LP-Antikörper im Westernblot ein weiteres Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 48 kDa erkennen, dessen Identität noch nicht bekannt ist ([Abb. 2d](#)). Es gibt zwar kommerzielle ELISA-Kits zum Nachweis der Anti-SLA-Antikörper, die aber unserer Erfahrung nach im Vergleich zum Westernblot sowohl eine geringere Spezifität als auch Sensitivität haben.

Bei 67% der Anti-LP-positiven AIH-Patienten finden sich gleichzeitig ANA und/oder SMA/Anti-Aktin-Antikörper, in 33% kommen sie aber isoliert vor, d. h. ohne andere, für eine AIH spezifische Markerantikörper [17].

Aufgrund der verschiedenen diagnostisch relevanten Antikörperspezifitäten kann die AIH in 2 oder 3 Subgruppen unterteilt werden:

Die AIH Typ I ist durch den Nachweis von ANA und/oder SMA/Anti-Aktin charakterisiert. Circa 80% der AIH-Patienten weisen diese Antikörperkonstellation auf, 20% der Patienten haben gleichzeitig Anti-SLA/LP-Antikörper.

Die AIH Typ II geht mit dem Nachweis von Anti-LKM1-Antikörpern einher. Sie betrifft ca. 10% der AIH-Patienten und tritt meist bei sehr jungen Patienten auf.

Ob die Anti-SLA/LP-positive AIH als eigene Subgruppe (AIH Typ III) geführt werden soll, ist umstritten und wird vor allem in der amerikanischen Literatur abgelehnt, da sie sich klinisch nicht wesentlich von der AIH Typ I unterscheidet. Festzuhalten ist aber, dass die Antikörper zwar meist mit ANA und/oder SMA/Anti-Aktin assoziiert sind (s. o.), aber bei ca. 10% der AIH-Patienten isoliert positiv sind; die Anti-SLA/LP-positive AIH stellt somit eine ähnlich große Subgruppe wie die AIH Typ II dar.

Es wurden noch weitere Antikörper bei der AIH gefunden, die aber entweder aufgrund ihrer Rarität oder ihres relativ aufwendigen Nachweisverfahrens nicht oder nur selten in die Diagnostik einbezogen werden. Hierzu gehören Antikörper gegen ein weiteres lösliches zytosolisches Antigen aus der Leber (*Anti-LC1*), das als Formiminotransferase Cyclodeaminase (FTCD) identifiziert wurde [12], sowie *Antikörper gegen Lebermembran (LMA)*, die im Westernblot mit einem Plasmamembranantigen mit einem Molekulargewicht von 26 kDa reagieren [18].

*Antikörper gegen den Asialoglycoproteinrezeptor (ASPGR)* kommen bei ca. 80% der AIH-Patienten vor und scheinen mit der Aktivität der Erkrankung zu korrelieren [12]. In der Diagnostik der AIH spielten sie bisher keine große Rolle, da ihr Nachweis aufwendig ist und erst seit Kurzem ein zuverlässiger kommerzieller Assay zur Verfügung steht [19].

*pANCA* wurden nicht nur bei der Colitis ulcerosa, sondern auch bei der AIH Typ I (65%) – nicht jedoch bei der AIH Typ II – beschrieben [12, 20]. Die Häufigkeit ihres Nachweises hängt jedoch von der Methode ab; wir fanden sie nur bei 16% der AIH-Patienten [5], und bei diesen Patienten bestand der Hinweis auf eine Assoziation mit einer PSC. Ein wichtiges Targetantigen der *pANCA* bei autoimmunen Lebererkrankungen – weniger dagegen bei der Colitis ulcerosa – könnte das humane  $\beta$ -Tubulin Isoform 5 sein [21].

Die immunsuppressive Therapie mit Steroiden und Azathioprin ist bei Patienten mit AIH die Therapie der Wahl. Da sich meist unter dieser Therapieform die IgG-Globuline normalisieren und auch die Antikörpertiter (ANA, SMA/Anti-Aktin, Anti-LKM, Anti-SLA/LP) in der Regel abnehmen, eignen sie sich gut als Verlaufsparemeter, zumal sie im Schub wieder ansteigen.

Seit über 50 Jahren ist bekannt, dass auch bei **viralen Hepatitiden** eine Reihe von Antikörpern auftreten können.

Am häufigsten finden sich *Antikörper gegen glatte Muskulatur (SMA)* (bis zu 80% der Patienten mit Hepatitis-B-Oberflächen-Antigen [HBsAg]-positiver Hepatitis). Es handelt sich vorwiegend um Anti-Aktin-Antikörper, die aber – im Gegensatz zur autoimmunen Hepatitis – bei Virushepatitiden meist vom IgM-Typ und nicht-Komplementbindend sind. *Antikörper gegen Gefäßendothel (AEA)* kommen bei Virushepatitiden und insofern auch bei Virushepatitiden allgemein vor und fehlen vollständig bei Autoimmunerkrankungen. Auch *anti-sarkolemmale Antikörper (ASA)* sind ein signifikanter Befund bei viralen Lebererkrankungen (ca. 40% der Fälle) [11].

*Anti-LKM-Antikörper* wurden bereits 1983 bei der Delta-Hepatitis beschrieben, sie erkennen aber ein anderes Antigen als Anti-LKM1-Antikörper bei der AIH, nämlich die Uridindiphosphat-Glucuronosyltransferase (UGT) [12]; sie wurden daher auch als Anti-LKM3 bezeichnet (Anti-LKM2-Antikörper kennzeichnen eine besondere Form einer medikamentös [Tielinsäure]-induzierten Hepatitis). Verwirrend war zunächst, als auch bei der Hepatitis C Anti-LKM-Antikörper beschrieben wurden. Mittlerweile weiß man aber, dass auch diese Antikörper von den AIH-spezifischen Anti-LKM1-Antikörpern differenziert werden können, da sie andere Epitope des Cytochrom P4502D6 erkennen [12, 13]. Sie sind aber nur sehr selten bei der Hepatitis C nachweisbar (ca. 0,01%). Trotzdem ist beim Nachweis von Anti-LKM-Antikörpern bei der Hepatitis C immer wichtig, zu differenzieren, ob es sich um AIH-spezifische Anti-LKM1-Antikörper oder Hepatitis-C-induzierte Anti-LKM-Antikörper handelt, da hiervon die adäquate Therapie abhängt.

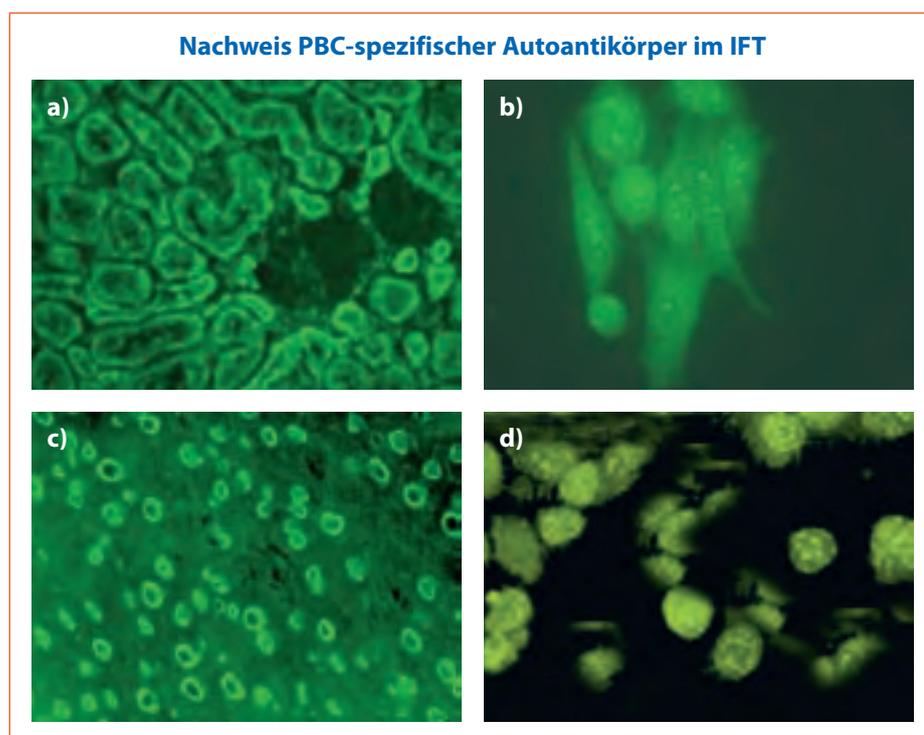
Dasselbe gilt auch für den Nachweis von ANA. Im IFT mit Hep2-Zellen werden gerade bei Virushepatitiden relativ häufig (ca. 55%) hochtitrige ANA beobachtet, bei denen es sich aber um natürlich vorkommende Antikörper handelt, die dann mittels IFT an Gewebeschnitten negativ oder nur niedrigtitrig nachweisbar sind (bis zu 1:160). Bei der Interpretation eines positiven ANA-Befunds bei einer Virushepatitis ist daher unbedingt die Nachweismethode zu berücksichtigen.

► *Bei viralen Hepatitiden kommen eine Reihe von Autoantikörpern vor, die aber in erster Linie als Ausdruck des infektiösen Prozesses zu interpretieren sind. Der Einsatz differenzierter Methoden kann aber hilfreich sein, um sie von AIH-relevanten Antikörpern zu unterscheiden.*

Die **primär biliäre Zirrhose (PBC)** bzw. chronische nicht-eitrige destruierende Cholangitis ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der kleinen und mittleren Gallengänge, die überwiegend Frauen im mittleren Lebensalter betrifft. Bei Kindern kommt sie nicht vor. Laborchemisch findet sich eine mäßige bis starke Erhöhung der alkalischen Phosphatase (AP) bei normalerweise nur gering erhöhten Transaminasen. In der Mehrzahl der Fälle sind die IgM-Globuline pathologisch.

Morphologisch wird die PBC in 4 Stadien eingeteilt. In den Frühstadien ist die histologische Diagnose oft nicht mit Sicherheit zu stellen, da die spezifischen Veränderungen nur fokal sind und bei der Biopsie nicht immer erfasst werden.

Serologisch ist eine Reihe von Autoantikörpern nachweisbar (Abb. 4). Die größte Bedeutung kommt den *antimitochondrialen Antikörpern (AMA)* zu. Der IFT an Gewebeschnitten gehört nach wie vor zu den gebräuchlichsten Methoden zum Nachweis von AMA. Sie ergeben eine typische Reaktion an den distalen Tubuluszellen der Niere sowie an den Parietalzellen des Magens bei nur geringer zytoplasmatischer Fluoreszenz der Hepatozyten (Abb. 4). Etwa 80% aller PBC-Patienten sind mit dieser Methode AMA-positiv. Der IFT an Hep2-Zellen ist dagegen weniger geeignet, da sich hier AMA-positive Reaktionen nur schwer von anderen zytoplasmatischen Mustern abgrenzen lassen.



**a) Nachweis von AMA an Nierengewebe (Ratte); b) Nachweis von Antikörpern gegen nuclear dots (sp100) an Zellkulturen; c) Nachweis von Antikörpern gegen Kernmembran (gp210) an Herzmuskelgewebe (Ratte); d) Nachweis von Anti-Zentromeren-Antikörpern an Zellkulturen**

AMA bei der PBC reagieren in erster Linie mit einem Antigen der inneren Mitochondrienmembran (M2), das aus 5 Determinanten mit einem Molekulargewicht von 70 kDa (M2a), 56 kDa (M2b), 52 kDa (M2c), 45 kDa (M2d) und 36 kDa (M2e) besteht [22]. Mit dem M2-Antigen reagieren 95% der Seren von PBC-Patienten. Die korrespondierenden Antigene wurden als E1- und E2-Untereinheiten von 3 Enzymen des  $\alpha$ -Ketosäuredehydrogenase-Komplexes identifiziert [23, 24] (Abb. 5). Die einzelnen Enzyme, insbesondere der E2-Komplex der Pyruvatdehydrogenase (PDH-E2 = M2a)

**Abb. 4**

und die  $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenase (M2c), werden auch in kommerziellen ELISA-Tests verwendet. Am häufigsten finden sich Antikörper gegen PDH-E2 (80%). Der Nachteil der Verwendung der rekombinanten Antigene gegenüber einer Fraktion, die alle wichtigen Antigen determinanten enthält, ist jedoch die geringere Sensitivität bei unveränderter Spezifität. Ferner reagieren Anti-M2-Antikörper vor allem mit Konformationsepitopen, die von rekombinanten Proteinen meist nicht in derselben Form exprimiert werden wie von dem nativen Antigen.

#### Identifizierung der M2-Determinanten als Untereinheiten des $\alpha$ -Ketosäuredehydrogenase-Komplexes

M2-Epitope	Identifizierung der Epitope
– a 70 kDa	E2-Untereinheit des Pyruvatdehydrogenase-Komplexes (PDH) (Dihydrolipoamid-Acetyltransferase)
– b 56 kDa	E3-bindendes Protein der PDH
– c 51 kDa	E2-Untereinheit des $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenase-Komplexes (Succinyl-Transferase)
– d 45 kDa	E1 $\alpha$ -Untereinheit der PDH
– e 36 kDa	E1 $\beta$ -Untereinheit der PDH

Die Anti-M2-Antikörper sind überwiegend vom IgG-Typ, können aber auch isoliert vom IgM-Typ sein. Ein Test, der auf den Nachweis der Anti-M2-Antikörper ausgerichtet ist, sollte daher sowohl IgG- als auch IgM-Antikörper in den Patientenserum erfassen.

Auch mittels KBR lassen sich die Anti-M2-Antikörper nachweisen. Komplement-bindende Anti-M2-Antikörper scheinen mit einer erhöhten Krankheitsaktivität zu korrelieren [22].

Durch die heute übliche Therapie der PBC mit Ursodeoxycholsäure (UDCA) werden die Antikörper nicht beeinflusst, auch die immunsuppressive Therapie führt zu keiner Titerveränderung. Nach Lebertransplantation werden Anti-M2-Antikörper nur vorübergehend negativ.

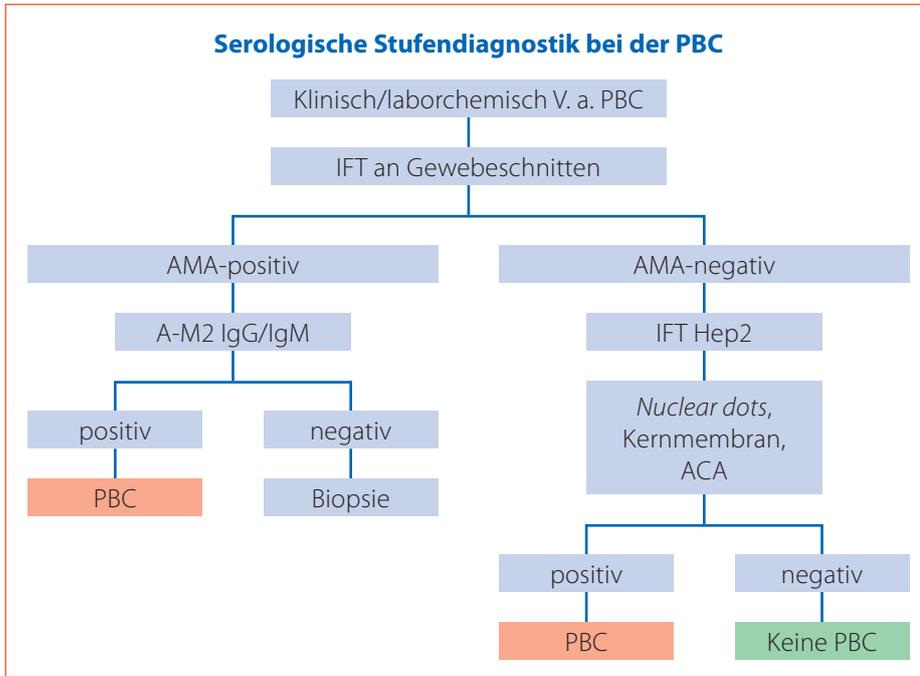
Neben den Anti-M2-Antikörpern konnten noch weitere AMA-Spezifitäten bei der PBC identifiziert werden, deren Targetantigene aber noch nicht bekannt sind. Sie scheinen mit einer aktiveren Verlaufsform (Anti-M4, -M8) oder einer benignen Verlaufsform (Anti-M9) zu korrelieren [22].

Die Häufigkeit der AMA/Anti-M2-negativen PBC liegt bei ca. 5% (Abb. 6) [10, 11]. Bei der Hälfte dieser Patienten sind PBC-spezifische ANA zu beobachten, die aber nur im IFT an Zellkulturen (z.B. Hep2) nachweisbar sind (Abb. 4). Diese Form wurde daher auch als AMA-negative/ANA-positive PBC oder Autoimmuncholeangiopathie bezeichnet. Es handelt sich um Antikörper gegen die Kernmembran (gp210), Antikörper gegen nuclear dots (sp100) sowie um Anti-Zentromeren-Antikörper, die ansonsten nur noch bei Patienten mit CREST-Syndrom gefunden werden. Die entsprechenden Antigene sind rekombinant verfügbar, sodass es ELISA-Methoden zum Nachweis der entsprechenden Antikörper gibt.

Abb. 5

► **Anti-M2-Antikörper gegen Untereinheiten des  $\alpha$ -Ketosäuredehydrogenase-Komplexes (Anti-M2) haben aufgrund ihrer hohen Spezifität (99%) und Sensitivität (90–95%) eine wichtige diagnostische Bedeutung für die PBC. Die Antikörper sind vom IgG- und IgM-Typ. Bei Anti-M2-negativen Patienten können PBC-spezifische ANA (Antikörper gegen nuclear dots, Kernmembran, Zentromeren) nachgewiesen werden.**

Abb. 6



Bei ca. 6% der PBC-Patienten finden sich gleichzeitig histologische und klinische Kriterien einer AIH, und bei diesen Patienten sind dann meist neben den AMA auch ANA, SMA/Anti-Aktin- oder Anti-SLA/LP-Antikörper nachweisbar und sowohl die IgM- als auch die IgG-Globuline erhöht (**Überlappungssyndrom**) [10]. Die rechtzeitige Diagnose eines Überlappungssyndroms ist von therapeutischer Relevanz, da bei diesen Patienten meist die AIH-Komponente die Prognose bestimmt, sodass eine konsequente immunsuppressive Therapie durchgeführt werden sollte.

Auch die Assoziation einer PBC oder einer AIH mit einer Kollagenerkrankung ist bekannt, d.h. auch Kollagenose-spezifische ANA sollten bei diesen Patienten analysiert werden.

Ferner sollte man immer daran denken, dass autoimmune Lebererkrankungen auch mit toxischen Hepatitiden assoziiert sein können.

Im Gegensatz zur PBC und AIH tritt die **primär sklerosierende Cholangitis (PSC)** überwiegend beim männlichen Geschlecht und im jüngeren Alter auf. Circa 70% der Patienten haben gleichzeitig eine Colitis ulcerosa. Eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase ist typisch, die Bilirubinwerte sind schwankend. Die Immunglobuline liegen meist im Normbereich. Die Diagnose wird mithilfe der ERCP gestellt, allerdings können in Frühstadien spezifische Veränderungen noch fehlen. Für die PSC ist morphologisch eine fibroobliterative Gallengangläsion charakteristisch, aber sie ist nur bei einem geringen Prozentsatz der Patienten nachweisbar. Die histologische Diagnose ist daher schwierig.

Verschiedene Autoantikörper wurden bei der PSC beschrieben. Die größte klinische/diagnostische Relevanz kommt den *pANCA* zu [25]. Sie werden wie bei der Colitis ulcerosa im IFT an humanen Granulozyten nachgewiesen. Da sie sich in ihrer Antigen-spezifität von den *pANCA* bei Vaskulitiden unterscheiden, werden sie – insbesondere in der deutschen Literatur – auch als *xANCA* bezeichnet. 80% der PSC-Patienten sind *pANCA*-positiv [3, 5, 6]. Die Häufigkeit der *pANCA* ist von der Nachweismethode abhängig und verschiedene Targetantigene wurden in Betracht gezogen, wie bereits bei der Colitis ulcerosa erwähnt. Die Standardisierung des *pANCA*-Nachweises ist daher schwierig. Die Antikörper lassen sich auch im Westernblot unter Verwendung humaner Granulozyten nachweisen und reagieren hier mit Determinanten bei 90, 60, 55, 40 und 30 kDa, aber auch dieses Testsystem ist sehr anfällig [5]. Der Nachweis von *pANCA* sollte daher Laboratorien vorbehalten bleiben, die über eine große Erfahrung auf dem Gebiet der Granulozytenantikörper verfügen.

► Bei einem Überlappungssyndrom zwischen PBC und AIH liegen klinisch, histologisch, laborchemisch und serologisch die Kriterien beider Erkrankungen vor.

► *pANCA* sind häufig mit der PSC assoziiert, sind aber kein diagnostischer Marker für die Erkrankung. Wichtigstes diagnostisches Kriterium ist die ERCP.

Nach einer neueren Arbeit könnte das humane  $\beta$ -Tubulin Isotyp 5 ein Hauptantigen bei der PSC wie auch bei der AIH sein [21]. Inwieweit sich dieses Antigen für den Einsatz im ELISA eignet, muss noch evaluiert werden.

Wie die Anti-M2-Antikörper bei der PBC bleiben auch die pANCA nach Lebertransplantation positiv und lassen sich durch UDCA oder immunsuppressive Therapie nicht beeinflussen. Interessant sind Hinweise, dass auch bei gesunden Familienangehörigen von PSC-Patienten pANCA gehäuft auftreten.

In [Tabelle 2](#) sind nochmals die Antikörper zusammengestellt, die bei chronischen Erkrankungen der Leber und des Gastrointestinaltrakts eine eindeutige Diagnosestellung ermöglichen.

**Tab. 2**

<b>Autoantikörper mit hoher diagnostischer Wertigkeit bei Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts und der Leber</b>				
<b>Antikörper gegen</b>	<b>Nachweis-methode</b>	<b>Erkrankung</b>	<b>Sensitivität (%)</b>	<b>Spezifität (%)</b>
Parietalzellen/ H <sup>+</sup> -K <sup>+</sup> -ATPase	IFT, ELISA	Chronisch atro- phische Gastritis, perniziöse Anämie	99	95
Intrinsic-Faktor	ELISA		Noch unbekannt	
pANCA/ASCA	IFT/ELISA	Evtl. zur Differen- zierung Colitis ulcerosa vs. Morbus Crohn	Ca. 50	95–100
EMA (IgA)	IFT	Sprue/Zöliakie	100	99
Anti-tTG (IgA)	ELISA		97	98
Anti-Aktin (IgG)	IFT	AIH I	30	80
Anti-LKM1	IFT, ELISA	AIH II	10	99
Anti-SLA/LP	RIA, ELISA, Westernblot	AIH III	30	99
AMA/Anti-M2	IFT, ELISA	PBC	90	100
<i>nuclear dots</i> (sp100)	IFT, Zellkulturen, ELISA	PBC (AMA-negativ)	40	99
Kernmembran (gp210)	IFT, Zellkulturen, ELISA		40	99
Zentromere	IFT, Zellkulturen, ELISA	PBC (AMA-negativ)*		

\*) Ein CREST-Syndrom sollte ausgeschlossen sein.

### **Medikamentös allergische Lebererkrankungen**

Autoantikörper sind auch bei medikamentös induzierten Lebererkrankungen nachweisbar. Es handelt sich aber meist um eine Aktivierung natürlich vorkommender Antikörper wie bei infektiösen Prozessen, insbesondere auch ANA können nachweisbar sein. Der Nachweis von Antikörpern gegen Medikamente kann – wie insgesamt bei medikamentös allergischen Reaktionen – mittels RAST (*radioallergosorbent test*) durchgeführt werden, diese Methode steht aber nur für wenige Substanzen zur Verfügung.

Autoantikörper, die für eine bestimmte Medikamenten-induzierte Lebererkrankung spezifisch sind, wurden in der Vergangenheit in sehr seltenen Fällen beschrieben; so kommen bei der Tielinsäure-induzierten Hepatitis Anti-LKM2-Antikörper vor (Targetantigen Cytochrom P450C9) oder bei der Iproniazid-induzierten Hepatitis AMA (Anti-M6, Targetantigen, Monaminoxidase B). Werden die entsprechenden Medika-

mente aber abgesetzt, sind auch die Autoantikörper nicht mehr zu beobachten. Gelegentlich lassen sich auch bei der Halothanhepatitis Antikörper gegen Lebermikrosomen nachweisen.

Eine der besten *in-vitro*-Methoden zum Nachweis einer medikamentös allergischen Lebererkrankung ist heute anerkanntermaßen der Lymphozytentransformationstest (LTT) [26, 27].

Bei dieser Methode werden Lymphozyten der Patienten isoliert, mit dem infrage kommenden Medikament inkubiert und nach einer Kultivierung von 7 Tagen wird die Aktivierung sensibilisierter Lymphozyten gemessen. Dies geschieht entweder über die Bestimmung der Proliferation über den Einbau von <sup>3</sup>H-Thymidin oder Bromdesoxyuridin, Nachweis von Aktivierungsmarkern auf der Zelloberfläche mittels durchflusszytometrischer Messung oder über die Bestimmung der Freisetzung von Zytokinen. Am besten bewährt hat sich der Proliferationstest mittels <sup>3</sup>H-Thymidineinbau [26].

Der Test ist allerdings relativ aufwendig und muss unter ganz bestimmten Bedingungen durchgeführt werden (z. B. optimaler Zeitraum der Analyse 10 Tage bis 6 Wochen nach Absetzen des Medikaments, Blut muss innerhalb von 24 Stunden verarbeitet werden etc.); er wird daher auch nur von einigen Laboratorien durchgeführt. Gerade im Bereich der medikamentösen Allergien hat er eine sehr hohe Spezifität. Die Sensitivität ist allerdings je nach Medikamentengruppe unterschiedlich und liegt bei maximal 60% (Tab. 3) [26, 28].

**Häufigkeit eines positiven Lymphozytentransformationstests (LTT) bei medikamentös induzierter Hepatitis in Relation zu verschiedenen Medikamentengruppen bei 176 Patienten (eigene Untersuchungen 2000–2006)**

Medikamente/ Stoffgruppe	Anzahl Patienten getestet	Anzahl (%) im LTT positiv
Amiodaron	7	4 (56)
Carbamazepin	9	5 (56)
Phenprocoumon	30	15 (50)
Lipidsenker	6	3 (50)
Antibiotika	28	11 (39)
Diclofenac	12	4 (33)
Ibuprofen	6	2 (33)
Paracetamol	7	2 (29)
Schöllkraut	4	1 (25)

Bei Patienten, bei denen evtl. mehrere Medikamente für eine Nebenwirkungsreaktion infrage kommen oder auch Kreuzreaktionen mit anderen Substanzgruppen ausgeschlossen werden sollen, bietet sich der Test in der Differenzialdiagnose aber durchaus an.

### Zu empfehlende Literatur

**1** Bergman MP, Vandenbroucke-Grauls CM, Appelmelk BJ, D’Elios MM, Amedei A, Azzurri A, Benagiano M, Del Prete G. The story so far: *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity. *Int Rev Immunol* 2005; 24: 63–91.

**2** Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997; 337: 1441–1448.

Tab. 3

### Literatur

- 3** Wen Z, Fiocchi C.  
Inflammatory bowel disease: autoimmune or immune-mediated pathogenesis?  
*Clin Dev Immunol* 2004; 11: 195–204.
- 4** Mirza ZK, Sastri B, Lin JJ, Amenta PS, Das KM.  
Autoimmunity against human tropomyosin isoforms in ulcerative colitis: localization of specific human tropomyosin isoforms in the intestine and extraintestinal organs.  
*Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1036–1043.
- 5** Klein R, Eisenburg J, Weber P, Seibold F, Berg PA.  
Significance and specificity of antibodies to neutrophils detected by western blotting for the serological diagnosis of primary sclerosing cholangitis.  
*Hepatology* 1991; 14: 1147–1152.
- 6** Seibold F, Weber P, Klein R, Berg PA, Wiedmann KH.  
Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis.  
*Gut* 1992; 33: 657–662.
- 7** Hartman C, Eliakim R, Shamir R.  
Perinuclear antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies: serologic markers in inflammatory bowel disease.  
*Isr Med Assoc J* 2004; 6: 221–226.
- 8** Schuppan D, Junker Y, Barisani D.  
Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies.  
*Gastroenterology* 2009; 137: 1912–1933.
- 9** McGough N, Cummings JH.  
Coeliac disease: a diverse clinical syndrome caused by intolerance of wheat, barley and rye.  
*Proc Nutr Soc* 2005; 64: 434–450.
- 10** Berg PA, Klein R.  
Autoimmunhepatitis und Overlap-Syndrom: Diagnostik.  
*Praxis* 2002; 91: 1339–1346.
- 11** Klein R, Berg PA.  
Autoantikörper bei chronischen Lebererkrankungen: klinische und diagnostische Relevanz.  
*Klin Lab* 1993; 39: 611–626.
- 12** Bogdanos DP, Mieli-Vergani G, Vergani D.  
Autoantibodies and their antigens in autoimmune hepatitis.  
*Semin Liver Dis* 2009; 29: 241–253.
- 13** Klein R, Zanger UM, Berg T, Hopf U, Berg PA.  
Overlapping but distinct specificities of anti-liver-kidney microsome antibodies in autoimmune hepatitis type II and hepatitis C revealed by recombinant native CYP2D6 and novel peptide epitopes.  
*Clin Exp Immunol* 1999; 118: 290–297.
- 14** Berg PA, Stechemesser E, Strienz J.  
Hypergammaglobulinämische chronisch aktive Hepatitis mit Nachweis von Leber-Pankreas-spezifischen komplementbindenden Antikörpern.  
*Verh Dtsch Ges Inn Med* 1981; 87: 921–927.
- 15** Manns M, Gerken G, Kyriatsoulis A, Staritz M, Meyer zum Büschenfelde KH.  
Characterisation of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against a soluble liver antigen.  
*Lancet* 1987; I: 292–294.

- 16** Wies I, Brunner S, Henninger J, Herkel J, Kanzler S, Meyer zum Büschenfelde KH, Lohse AW.  
Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis.  
*Lancet* 2000; 355: 1510–1515.
- 17** Stechemesser E, Klein R, Berg PA.  
Characterization and clinical relevance of liver-pancreas antibodies in autoimmune hepatitis.  
*Hepatology* 1993; 18: 1–9.
- 18** Hopf U, Jahn HU, Möller B, Stemerowicz R, Wittenbrink C, Klein R, Berg PA.  
Liver membrane antibodies (LMA) recognize a 26-kD protein on the hepatocellular surface.  
*Clin Exp Immunol* 1990; 79: 54–61.
- 19** Hausdorf G, Roggenbuck D, Feist E, Büttner T, Jungblut PR, Conrad K, Berg C, Klein R.  
Autoantibodies to asialoglycoprotein receptor (ASGPR) measured by a novel ELISA – revival of a disease-activity marker in autoimmune hepatitis.  
*Clin Chim Acta* 2009; 408: 19–24.
- 20** Zauli D, Ghetti S, Grassi A, Descovich C, Cassani F, Ballardini G, Muratori L, Bianchi FB.  
Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in type 1 and 2 autoimmune hepatitis.  
*Hepatology* 1997; 25: 1105–1107.
- 21** Terjung B, Söhne J, Lechtenberg B, Gottwein J, Muennich M, Herzog V, Mähler M, Sauerbruch T, Spengler U.  
p-ANCAs in autoimmune liver disorders recognise human beta-tubulin isotype 5 and cross-react with microbial protein FtsZ.  
*Gut* 2010; 59: 808–816.
- 22** Berg PA, Klein R.  
Mitochondrial antigen/antibody systems in primary biliary cirrhosis: revisited.  
*Liver* 1995; 15: 281–292.
- 23** Van de Water J, Surh CD, Leung PS, Krams SM, Fregeau D, Davis P, Coppel R, Mackay IR, Gershwin ME.  
Molecular definitions, autoepitopes, and enzymatic activities of the mitochondrial autoantigens of primary biliary cirrhosis.  
*Semin Liver Dis* 1989; 9: 132–137.
- 24** Yeaman SJ, Fussey SP, Danner DJ, James OF, Mutimer DJ, Bassendine MF.  
Primary biliary cirrhosis: identification of two major M2 mitochondrial autoantigens.  
*Lancet* 1988; I: 1067–1070.
- 25** Hov JR, Boberg KM, Karlsen TH.  
Autoantibodies in primary sclerosing cholangitis.  
*World J Gastroenterol* 2008; 14: 3781–3791.
- 26** Berg PA, Becker EW.  
The lymphocyte transformation test – a debated method for the evaluation of drug allergic hepatic injury.  
*J Hepatol* 1995; 22: 115–118.
- 27** Pichler WJ, Tilch J.  
The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity.  
*Allergy* 2004; 59: 809–820.
- 28** Klein R.  
Evidence for immunological (allergic) mechanisms in a subgroup of patients with phenprocoumon-induced liver disease.  
*Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65: 1195–1201.

# Fragen zur immunologischen Diagnostik in der Gastroenterologie und Hepatologie

## Frage 1:

**Welche Aussage zu den Serumimmunglobulinen bei den autoimmunen Lebererkrankungen trifft nicht zu?**

- Eine Erhöhung der IgG-Globuline ist charakteristisch für die AIH
- Bei der PBC sind immer die IgM-Globuline erhöht
- Bei alkoholischen Lebererkrankungen sind häufig die IgA-Globuline erhöht
- Die gleichzeitige Erhöhung der IgG- und IgM-Globuline bei der AIH kann ein Hinweis auf ein Überlappungssyndrom mit einer PBC sein
- Bei der PSC sind die Immunglobuline meist normal

## Frage 2:

**Welche Antwort ist richtig? Bei chronisch entzündlichen Darm-erkrankungen**

- spielen Autoantikörper in der Erstdiagnostik eine wichtige Rolle
- erlauben Autoantikörper eine Beurteilung der Krankheitsaktivität
- können bestimmte Antikörperkonstellationen hilfreich sein für die Differenzialdiagnose Colitis ulcerosa/Morbus Crohn
- haben Autoantikörper pathogenetische Bedeutung
- helfen Autoantikörper bei der Entscheidung zur Therapie

## Frage 3:

**Welche Aussage zur HLA-Typisierung bei autoimmunen Lebererkrankungen und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen ist richtig?**

- Die HLA-Typisierung ist eine einfache und kostengünstige Methode
- Der Nachweis von HLA-DR3, -DR4, -DR8 ist fast beweisend für die AIH
- Das Nicht-Ansprechen auf eine Therapie bei der AIH zeigt eine enge Assoziation mit bestimmten HLA-Typen
- Bei der PBC findet sich nie HLA-DR3, -DR4, -DR8
- Das Nicht-Vorhandensein von HLA-DQ2 oder -DQ8 schließt eine Sprue so gut wie aus

## Frage 4:

**Welche Aussage ist richtig?**

- AMA bei der AIH weisen immer auf die Assoziation mit einer PBC hin
- ANA bei der PBC weisen immer auf die Assoziation mit einer AIH oder einer Kollagenerkrankung hin
- Eine AMA-negative PBC gibt es nicht
- Eine Autoantikörper-negative AIH gibt es nicht
- pANCA bei der AIH weisen immer auf die Assoziation mit einer PSC hin

# Falk Gastro-Kolleg

## Oberer GI-Trakt, Leber und Gallenwege, Darm

### Bitte beachten Sie:

Bei der Beantwortung der Fragen ist immer nur **1 Antwort** möglich.

Die Beantwortung der Fragen und Erlangung des Fortbildungszertifikats ist nur **online** möglich.

Bitte gehen Sie dazu auf unsere Homepage [www.falkfoundation.de](http://www.falkfoundation.de).

Unter dem Menüpunkt **Falk Gastro-Kolleg** können Sie sich anmelden und die Fragen beantworten.

**Bitte diesen Fragebogen nicht per Post oder Fax schicken!**

### Wichtig:

Fragebeantwortung unter

[www.falkfoundation.de](http://www.falkfoundation.de)

**Falk Gastro-Kolleg**

### Frage 5:

**Welche Methode ist bei autoimmunen Lebererkrankungen am besten zum Screening auf Autoantikörper geeignet?**

- IFT an Zellkulturen (z.B. Hep2)
- ELISA mit rekombinanten Antigenen
- ELISA mit Antigengemischen
- IFT an Gewebeschnitten (Ratte, Maus)
- Western- oder Dot blots mit gereinigten oder rekombinanten Antigenen

### Frage 6:

**Welche Antwort ist richtig? Der Lymphozytentransformationstest**

- ist hilfreich zum Nachweis medikamentös allergischer Lebererkrankungen
- ist hilfreich bei der Diagnose eines durch Antikörper gegen Intrinsic-Faktor induzierten Vitamin-B<sub>12</sub>-Mangels
- ist hilfreich zum Nachweis autoreaktiver T-Zellen bei Autoantikörper-negativer AIH
- kann mit Seren von Patienten mit chronischen Lebererkrankungen durchgeführt werden
- sollte immer unter stationären Bedingungen durchgeführt werden

### Frage 7:

**Für die Diagnose der PSC stellt welche der folgenden Maßnahmen das am besten geeignete Verfahren dar?**

- Leberpunktion und Histologie
- Nachweis von pANCA
- Abdomen-CT
- ERCP
- Nachweis von Antikörpern gegen Gallengänge

### Frage 8:

**Welche Antikörper kommen beim Morbus Crohn oder der Colitis ulcerosa nicht (oder nur selten) vor?**

- Antikörper gegen Kolonepithelien
- Antikörper gegen Saccharomyces cerevisiae
- pANCA
- ANA
- AMA

### Frage 9:

**Welche der folgenden Aussagen zu Autoantikörpern bei autoimmunen Lebererkrankungen trifft zu?**

- ANA sind spezifische Markerantikörper für eine AIH Typ I
- SMA sind typisch für die Assoziation einer AIH mit einer Virushepatitis
- Anti-SLA/LP-Antikörper kommen ausschließlich bei der AIH vor
- AIH und Virushepatitis können eindeutig durch den Nachweis von Autoantikörpern differenziert werden
- Anti-SLA/LP-Antikörper sind immer mit anderen Autoantikörpern assoziiert

### Frage 10:

**Welche Aussage zum Verhalten von Autoantikörpern unter Therapie trifft nicht zu?**

- AMA/anti-M2 bei der PBC persistieren unter Therapie mit UDCA
- IgA-Anti-tTG-Antikörper bei der Zöliakie werden bei Gluten-freier Diät negativ
- Anti-Aktin-Antikörper bei der AIH persistieren unter immunsuppressiver Therapie
- Anti-M2-Antikörper persistieren unter immunsuppressiver Therapie
- pANCA bei der PSC persistieren unter Therapie mit UDCA