

Günter Paul Sandner

Dr. med.

Antiphospholipid-Antikörper: Evaluation und Laboreinführung geeigneter Nachweisverfahren, klinische Bedeutung bei Kollagenosen, Einfluß auf den funktionellen Test zur Bestimmung der APC-Resistenz

Geboren am 15.04.1966 in Höchststadt a. d. Aisch

Reifeprüfung am 27.06.1986 in Höchststadt a. d. Aisch

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1990 bis WS 1996

Physikum am 26.03.1992 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Galveston, USA; Durban, Südafrika; Heidelberg

Staatsexamen am 14.11.1996 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. W. Fiehn

Antiphospholipid-Antikörper sind Immunglobuline, die gegen Phospholipide oder Phospholipid-Protein-Komplexe gerichtet sind. Sie setzen sich aus den zwei Subtypen Lupus Antikoagulanzien (LAC) und Anticardiolipin-Antikörper (ACA) zusammen, die durch verschiedene Nachweisverfahren definiert sind. Lupus Antikoagulanzien werden mittels phospholipidabhängiger Gerinnungstests nachgewiesen. Für Anticardiolipin-Antikörper oder Antikörper gegen andere Phospholipide als Cardiolipin erfolgt der Nachweis durch Elisa. Für beide Nachweisarten gibt es widersprüchliche Aussagen in der Literatur bezüglich der optimalen Testsysteme. Beide Antikörpertypen sind klinisch mit einer Vielzahl von Komplikationen assoziiert, ohne daß der pathologische Hintergrund eindeutig belegt ist. Die wichtigsten Komplikationen sind thromboembolische Ereignissen, Thrombozytopenien, neurologische Komplikationen und rezidivierende Aborte. Ein möglicher Pathomechanismus der Thrombophilie ist die Inaktivierung von aktivem Protein C. In funktionellen Gerinnungstestsystemen zum Nachweis einer Resistenz gegen aktiviertes Protein C, als die häufigste Ursache von familiärer Thrombophilie, ist demnach ein Einfluß der Antiphospholipid-Antikörper auf das zugegebene aktivierte Protein C denkbar.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Tests zum Nachweis von Lupus Antikoagulanzen und Anticardiolipin-Antikörpern zu vergleichen und für LAC-Tests ein effektives Testschema im Gerinnungslabor zu etablieren. Für Lupus Antikoagulanzen wurden dabei zum einen vier handelsübliche Screeningtests (PTT-LA, Actin FSL, DRVVT, KCT) mit einer laboreigenen Testmethode (TTI) verglichen. Zum anderen wurden zwei Bestätigungstestverfahren (Staclot LA, Staclot PNP) evaluiert. Für Anticardiolipin-Antikörper wurde ein Elisa, der nur Cardiolipin als Antigen enthält, mit einem Elisa, der ein Gemisch von Phospholipiden als Antigen verwendet, verglichen. Im zweiten Elisa wurden zusätzlich zu den üblichen IgG-Antikörpern auch die IgM-Isotypen bestimmt, um zu sehen ob, sich daraus zusätzliche Informationen ergeben. Als Patientenkollektiv dienten 128 Patienten der Rheumaambulanz der medizinischen Universitätsklinik mit Kollagenosen, primärem Antiphospholipid-Syndrom und unspezifischer ACA-Erhöhung. Bei den 117 Patienten mit Kollagenosen sollte der beschriebene Zusammenhang zwischen bestimmten Komplikationen und dem Auftreten der beiden Antikörpersubtypen überprüft werden. Gleichzeitig wurde untersucht, welche Gemeinsamkeiten und Unterschiede im Auftreten von Lupus Antikoagulanzen und Anticardiolipin-Antikörpern bestehen. Schließlich wurde der Einfluß der Antiphospholipid-Antikörper auf den funktionellen Test zur Messung der APC-Resistenz untersucht.

Bei den LAC-Nachweisverfahren erwies sich der Screeningtest TTI, gefolgt vom Test Actin FSL, als besonders geeignet zum Nachweis von Lupus Antikoagulanzen. Keiner dieser Tests konnte jedoch alle LAC-positiven Patienten nachweisen. Die Kombination aus beiden Tests erzielte mit nachgewiesenen 94% der LAC-positiven Patienten das beste Ergebnis. Bei den Bestätigungstests war der Test Staclot LA dem Test Staclot PNP geringfügig überlegen. Auf Grund dieser Ergebnisse und besonderer Hinweise in der Literatur konnte im Gerinnungslabor eine Stufendiagnostik mit diesen Tests etabliert werden.

Bei den Elisa-Verfahren erwies sich für Antikörper der Klasse IgG der Test mit Cardiolipin als Antigen dem Mischphospholipid-Elisa überlegen. Der letztere war nur positiv, wenn im Anticardiolipin-Antikörper-Elisa Antikörper mit hohen Titern entdeckt wurden. Der Mischphospholipid-Elisa selbst konnte keinen zusätzlichen Patienten mit Antikörpern finden. Antikörper der IgM-Klasse wurden dagegen auch bei Patienten gefunden, die negativ für IgG-Antikörper waren. Allerdings waren die isoliert vorkommenden IgM-Antikörper nur geringfügig mit den für Antiphospholipid-Antikörper typischen Komplikationen assoziiert, so daß sich kein zusätzlicher Vorteil aus der Bestimmung dieses Isotyps ergibt.

Bei der Analyse des Auftretens der Antiphospholipid-Antikörper konnte gezeigt werden, daß Lupus Antikoagulanzen und Anticardiolipin-Antikörper häufiger zusammen als unabhängig voneinander bei Patienten vorkommen. Ist ein Patient positiv für beide Antikörpersubtypen, so besteht ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Potenz der Lupus Antikoagulanzen und der Höhe der IgG-Anticardiolipin- bzw. IgG-Mischphospholipid-Antikörper, so daß es sich in diesem Fall vermutlich um die gleiche Antikörper-Spezifität handelt.

In den Untersuchungen zur Prävalenz der Antikörper bei Kollagenosen waren die beiden Antikörpertypen nur bei SLE gehäuft zu finden (LAC: 15%; ACA: 42%). Bei anderen Kollagenosen waren sie dagegen selten. Innerhalb der Kollagenosegruppe bestand ein eindeutiger statistischer Zusammenhang zwischen dem Auftreten von LAC oder dem gemeinsamen Vorkommen von LAC und ACA mit Thrombozytopenien, neurologischen Komplikationen und mehreren Komplikationen in der Patientenanamnese. Die Ergebnisse aus anderen Studien über einen Zusammenhang mit thromboembolischen Komplikationen konnten nicht bestätigt werden. Da bei Patienten das isolierte Vorkommen von ACA seltener mit Komplikationen assoziiert war als bei Positivität für LAC, konnte gezeigt werden, daß Lupus Antikoagulanzen eine größere Bedeutung für den Nachweis von Komplikationen haben als die im Elisa bestimmten IgG-Anticardiolipin-Antikörper.

Schließlich konnte der vermutete Einfluß von Antiphospholipid-Antikörpern auf den funktionellen Test zur Bestimmung der APC-Resistenz für Lupus Antikoagulanzen eindeutig bestätigt werden. Anticardiolipin-Antikörper hatten dagegen keinen signifikanten Einfluß auf den APC-Resistenz-Test. Lupus Antikoagulanzen sind dementsprechend in der Lage, im Sinne des Nachweises einer familiären APC-Resistenz, falsch positive Ergebnisse zu erzielen. Da dies nur für Lupus Antikoagulanzen, die im APC-Resistenz-Testansatz die Gerinnungszeit im testeigenen PTT-Test über den Normalbereich hinaus verlängerten, der Fall war, muß bei Plasmen solcher Patienten die APC-Resistenz alternativ, z.B. mittels PCR-Nachweis der Faktor-V-Punktmutation, bestimmt werden. Die durch LAC erzielte 'erworbene' APC-Resistenz stellt jedoch eine mögliche Erklärung für den Pathomechanismus der Lupus Antikoagulanzen in vivo dar.