

Bedeutung der ANCA-Diagnostik bei Vaskulitiden

Dr. rer. nat. Brit Kieselbach

Institut für Medizinische Diagnostik Berlin - Potsdam

Was sind Vaskulitiden?

- unterschiedliche Krankheitsbilder mit entzündlichen Veränderungen von Blutgefäßen
- Folgen:
 - Zerstörung der Gefäßwände (Infiltration und Nekrose)
 - mangelnde Blutversorgung betroffener Organe
 - Klinik abhängig von Ausmaß und Lokalisation der betroffenen Gefäßareale



Einteilung der Vaskulitiden

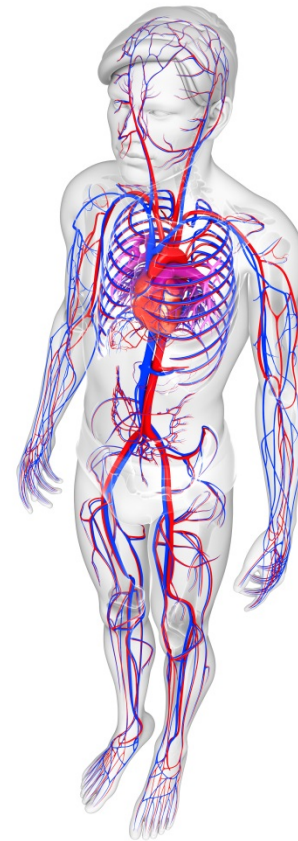
(Chapel Hill Consensus Conference, überarbeitet 2012)

erfolgt nach:

- Gefäßgröße
- Organbefall
- Begleitsymptomen
- Immunpathologischen Merkmalen

Einteilung der Vaskulitiden

1. primäre Vaskulitiden
2. sekundäre Vaskulitiden



Primäre Vaskulitiden

(nach der Chapel Hill Consensus Conference 2012; nach Jenette et al., 2012)

- Vaskulitiden der großen Gefäße
- Vaskulitiden der mittelgroßen Gefäße
- Vaskulitiden der kleinen Gefäße
- Vaskulitiden unterschiedlicher Gefäße
- Vaskulitis in einzelnen Organen

Primäre Vaskulitiden

(nach der Chapel Hill Consensus Conference 2012; nach Jenette et al., 2012)

- Vaskulitiden der großen Gefäße
- Vaskulitiden der mittelgroßen Gefäße
- **Vaskulitiden der kleinen Gefäße**
- Vaskulitiden unterschiedlicher Gefäße
- Vaskulitis in einzelnen Organen

Primäre Vaskulitiden

(nach der Chapel Hill Consensus Conference 2012; nach Jenette et al., 2012)

- Vaskulitiden der großen Gefäße
- Vaskulitiden der mittelgroßen Gefäße
- **Vaskulitiden der kleinen Gefäße**
- Vaskulitiden unterschiedlicher Gefäße
- Vaskulitis in einzelnen Organen

Immunkomplexvaskulitiden

- Anti-GBM-Erkrankung
- IgA-Vaskulitis (Schönlein-Henoch-Purpura)
- Kryoglobulinämische Vaskulitis
- Hypokomplementämische urtikarielle Vaskulitis

ANCA-assoziierte Vaskulitiden

- Granulomatose mit Polyangiitis (früher: Morbus Wegener)
- Mikroskopische Polyangiitis (MPA)
- Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (früher Churg-Strauss-Syndrom)

Klinik der ANCA-assoziierten Vaskulitiden

- Symptome abhängig von den betroffenen Organen
- Allgemeinsymptome
 - Abgeschlagenheit
 - Fieber
 - Gewichtsverlust
- häufig Befall des oberen Respirationstraktes, der Lungen und Nieren
- weitere Organmanifestationen

Klinik der ANCA-assoziierten Vaskulitiden

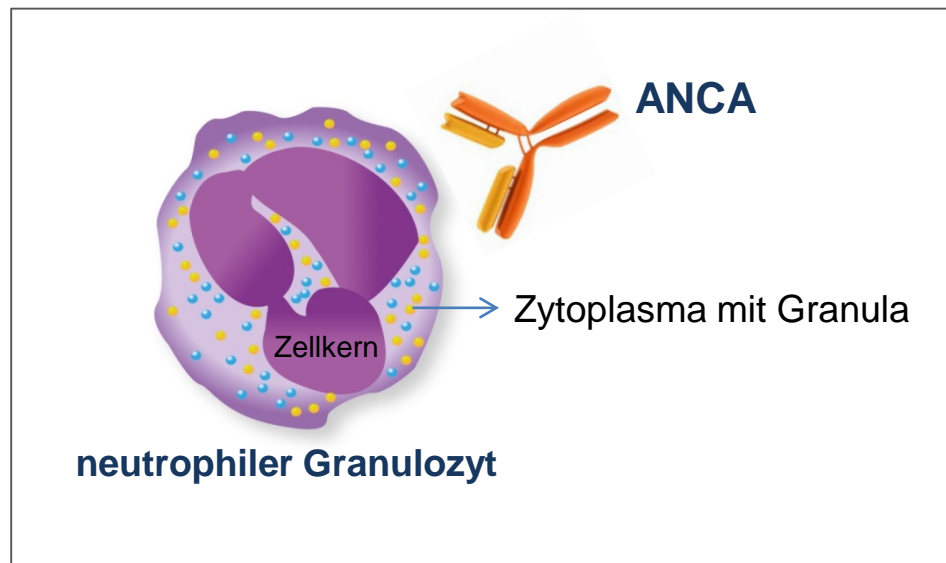
- Symptome abhängig von den betroffenen Organen
- Allgemeinsymptome
 - Abgeschlagenheit
 - Fieber
 - Gewichtsverlust
- häufig Befall des oberen Respirationstraktes, der Lungen und Nieren
- weitere Organmanifestationen

Typisch → ANCA !!!

Was sind ANCA?

ANCA = **A**nti-**N**eutrophile z(**c**)ytoplasmatische **A**ntikörper

- richten sich gegen zytoplasmatische Antigene in den Granula neutrophiler Granulozyten



- wichtige diagnostische Marker ANCA-assoziiierter Vaskulitiden

ANCA-Nachweismethode

1. Indirekte Immunfluoreszenz (IFT) → Screening
2. Enzymimmunoassay (ELISA) → Differenzierung,
Bestätigung

Beide Methoden zusammen verbessern die Nachweisrate und sind diagnostisch richtungsweisend für das Vorliegen einer ANCA-assoziierten Vaskulitis



ANCA-Nachweismethode

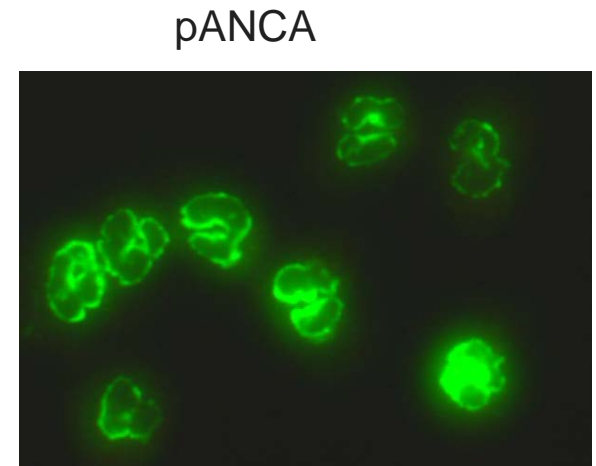
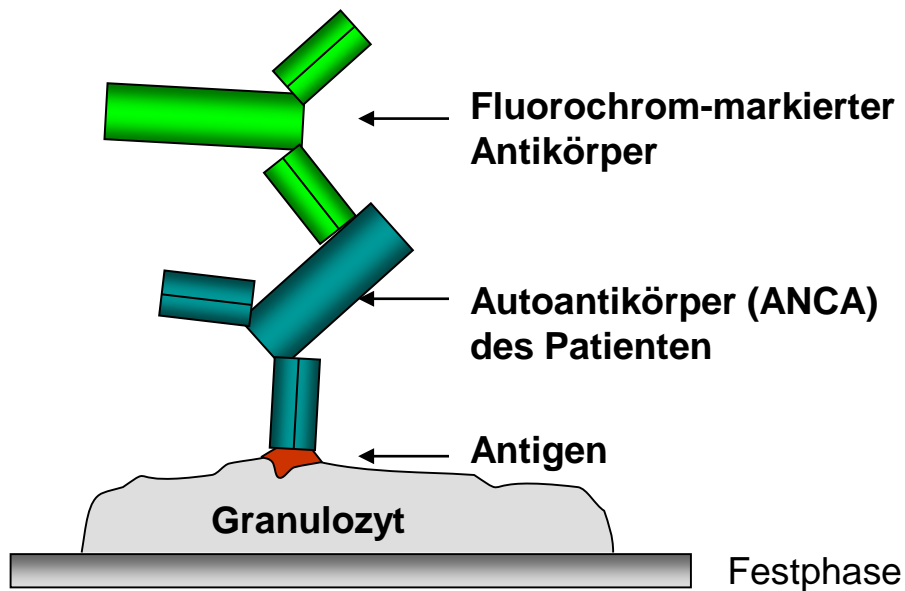
1. Indirekte Immunfluoreszenz (IFT) → Screening
2. Enzymimmunoassay (ELISA) → Differenzierung, Bestätigung

Neueste Studienergebnisse:

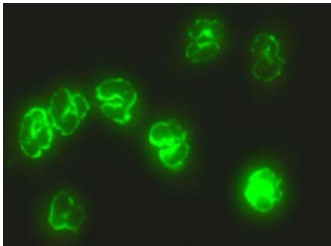
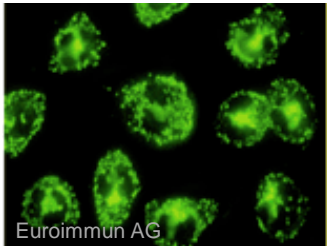
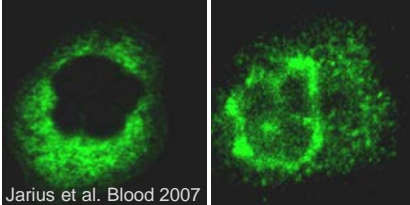
(Csernok E, Kempiners N, Hellmich B, Z Rheumatol, 2017)

„...primäre Verwendung des PR3- und MPO-ANCA-Immunoassay zur diagnostischen Evaluation von Patienten mit ANCA-assoziiierter Vaskulitis ohne Notwendigkeit einer simultanen Durchführung einer IFT...“

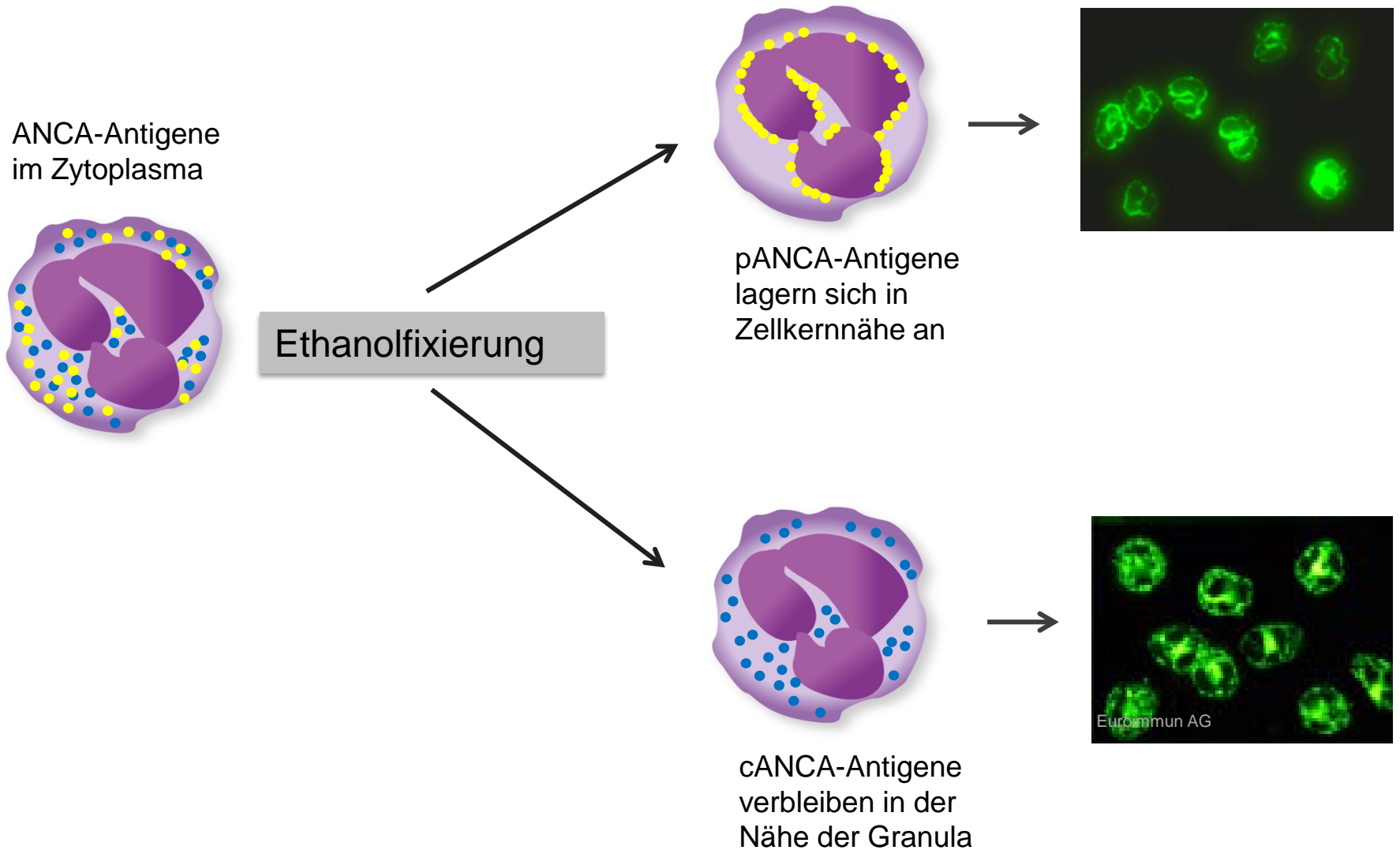
1. Indirekte Immunfluoreszenz (IFT)



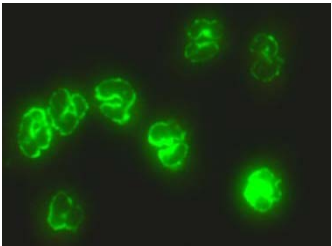
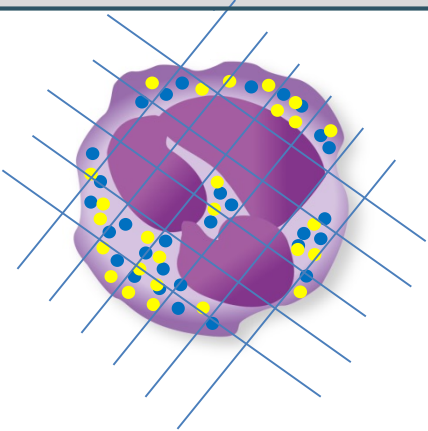
ANCA-Fluoreszenzmuster

	ethanolfixierte Granulozyten
1. pANCA (<i>perinukleär</i>)	
2. cANCA (<i>cytoplasmatisch</i>)	 <small>Euroimmun AG</small>
3. aANCA (<i>atypisch</i>)	 <small>Jarius et al. Blood 2007</small>

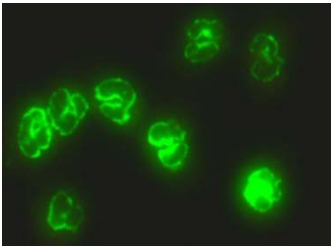
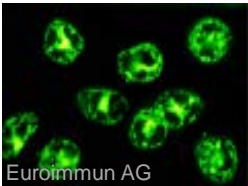
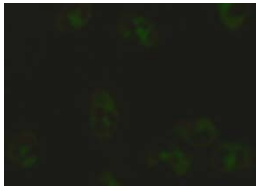
Wie entstehen die ANCA-Fluoreszenzmuster?



ANCA-Fluoreszenzmuster

	ethanolfixierte Granulozyten	formalinfixierte Granulozyten
pANCA (<i>perinukleär</i>)		

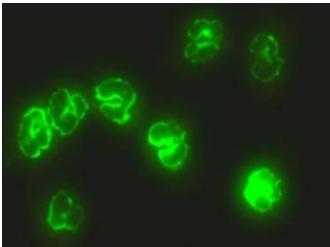
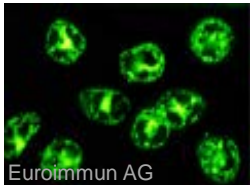
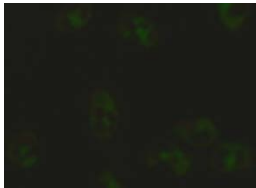
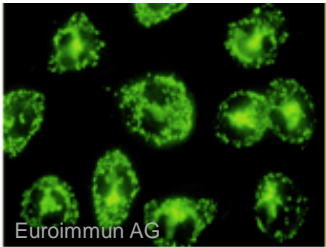
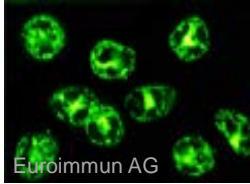
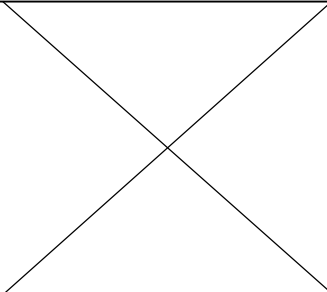
ANCA-Fluoreszenzmuster

	ethanolfixierte Granulozyten	formalinfixierte Granulozyten	
pANCA (<i>perinukleär</i>)		<i>resistent</i>	<i>sensibel</i>
		 Euroimmun AG	



**Myeloperoxidase
(MPO)**

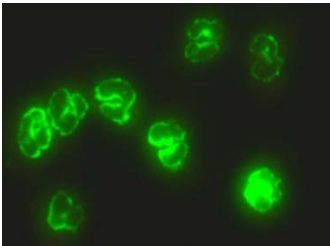
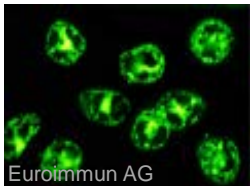
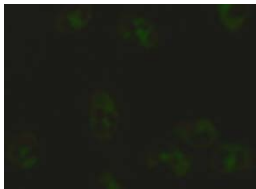
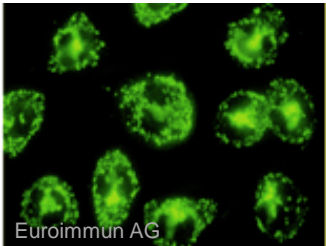
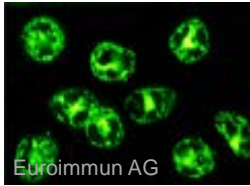
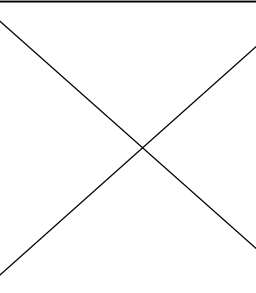
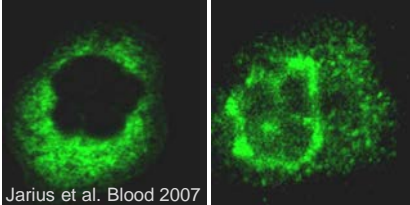
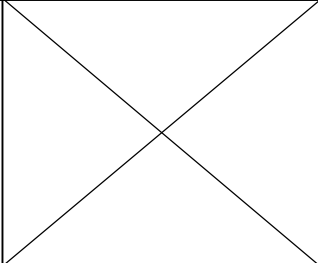
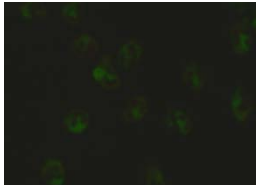
ANCA-Fluoreszenzmuster

	ethanolfixierte Granulozyten	formalinfixierte Granulozyten	
		<i>resistent</i>	<i>sensibel</i>
pANCA (<i>perinukleär</i>)		 Euroimmun AG	
cANCA (<i>cytoplasmatisch</i>)	 Euroimmun AG	 Euroimmun AG	

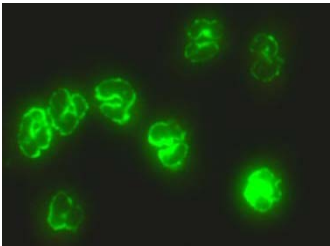
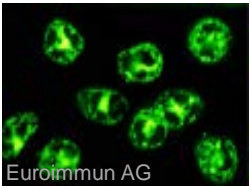
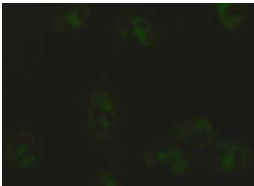
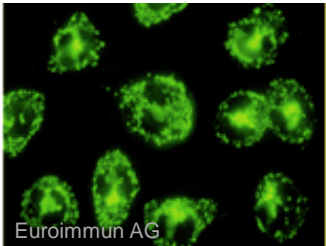
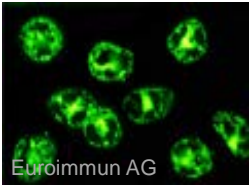
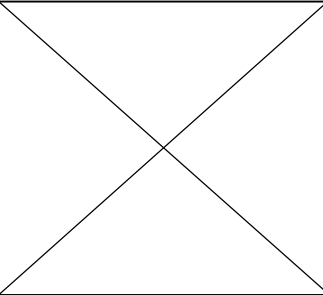
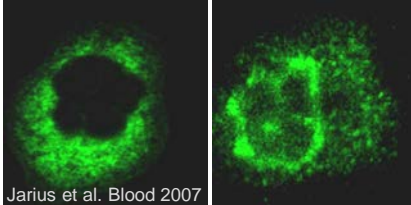
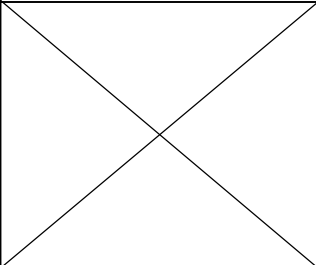
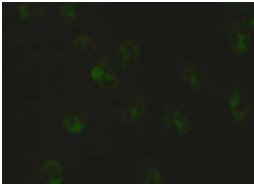


**Proteinase 3
(PR3)**

ANCA-Fluoreszenzmuster

	ethanolfixierte Granulozyten	formalinfixierte Granulozyten	
		<i>resistent</i>	<i>sensibel</i>
<p>pANCA (<i>perinukleär</i>)</p>		<p><i>resistent</i></p>  <p>Euroimmun AG</p>	<p><i>sensibel</i></p> 
<p>cANCA (<i>cytoplasmatisch</i>)</p>	 <p>Euroimmun AG</p>	 <p>Euroimmun AG</p>	
<p>aANCA (<i>atypisch</i>)</p>	 <p>Jarius et al. Blood 2007</p>		

ANCA-IFT-Ergebnisse

	ethanolfixierte Granulozyten	formalinfixierte Granulozyten	
		<i>resistent</i>	<i>sensibel</i>
pANCA (<i>perinukleär</i>)		 Euroimmun AG	
cANCA (<i>cytoplasmatisch</i>)	 Euroimmun AG	 Euroimmun AG	
aANCA (<i>atypisch</i>)	 Jarius et al. Blood 2007		

Ergebnisse:

1. ANCA-Titer

2. Formalin-Angabe

pANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT) (Spezifität: Formalin-resistent)	1:1280		< 1:10

cANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	1:80		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10

aANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
a-ANCA i.S. (IFT)	1:40		< 1:10
Muster: Ethanol-atypisch zytoplasmatisch Formalin-sensibel			

pANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT) (Spezifität: Formalin-resistent)	1:1280		< 1:10

cANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	1:80		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10

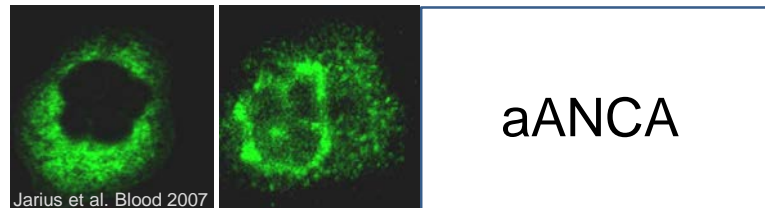
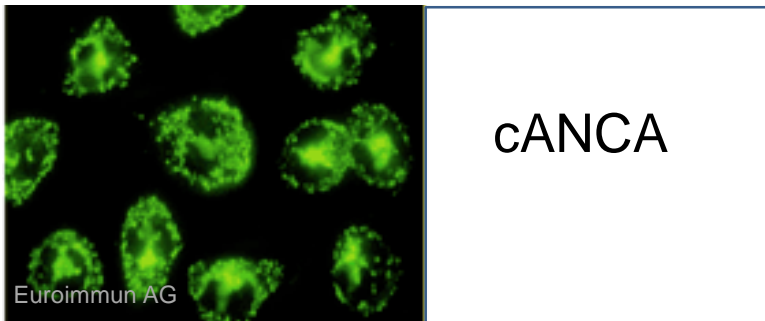
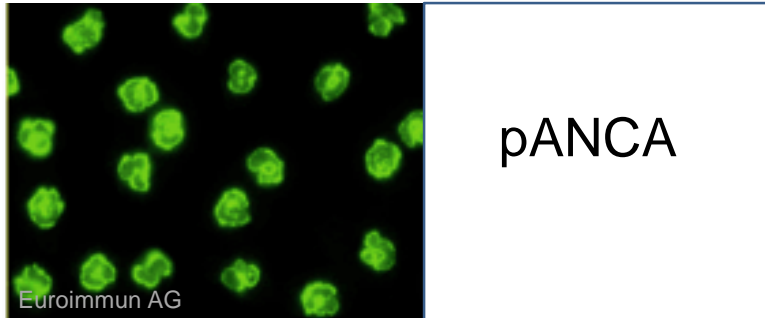
VASKULITIS ?

aANCA

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
a-ANCA i.S. (IFT)	1:40		< 1:10
Muster: Ethanol-atypisch zytoplasmatisch Formalin-sensibel			

2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)

Zielantigene der ANCA?



2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)

Zielantigene der ANCA:

Elastase

Myeloperoxidase (MPO)



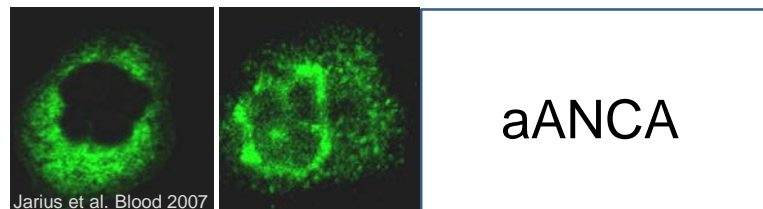
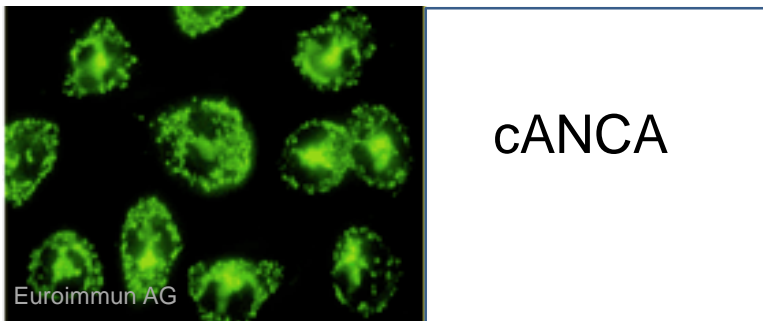
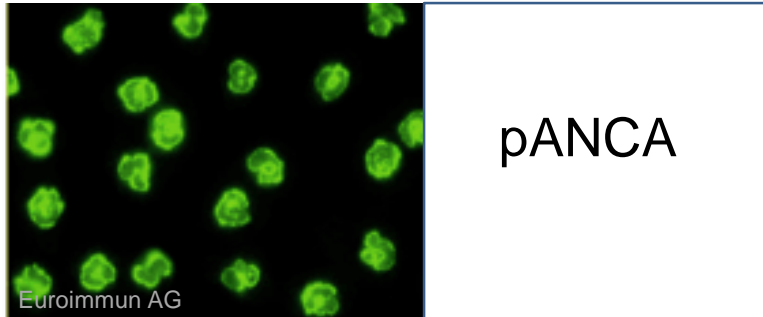
Proteinase 3 (PR3)

Laktoferrin

Lysozym

Enolase

Weitere...



2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)

Zielantigene der ANCA:

Elastase

Myeloperoxidase (MPO)

BPI

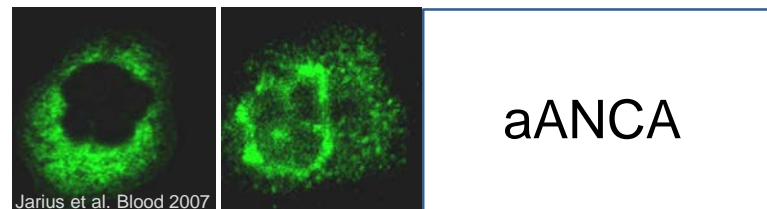
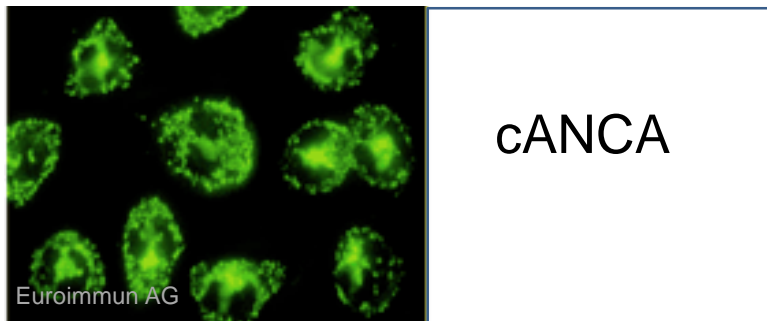
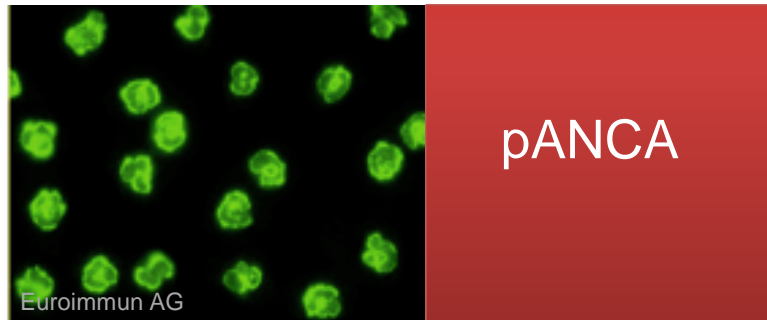
Proteinase 3 (PR3)

Laktoferrin

Lysozym

Enolase

Weitere...



2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)

Zielantigene der ANCA:

Elastase

Myeloperoxidase (MPO)

BPI

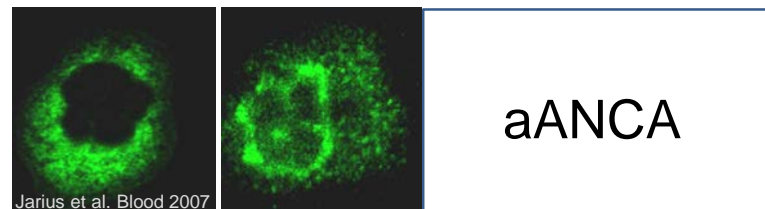
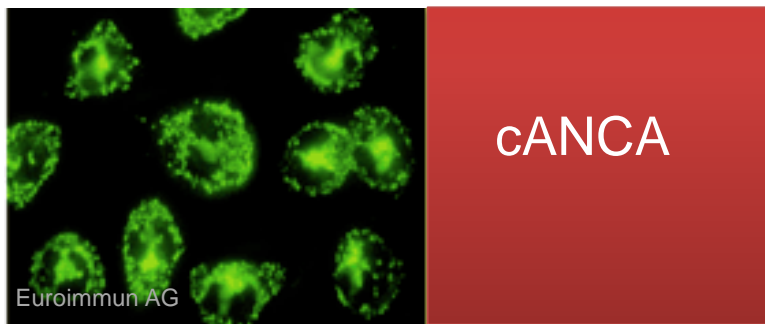
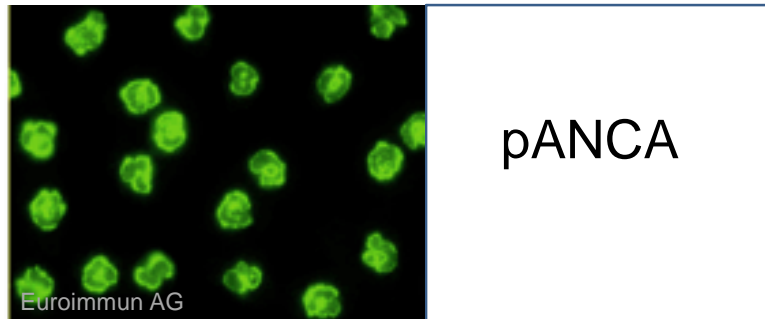
Proteinase 3 (PR3)

Laktoferrin

Lysozym

Enolase

Weitere...



2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)

Zielantigene der ANCA:

Elastase

Myeloperoxidase (MPO)

BPI

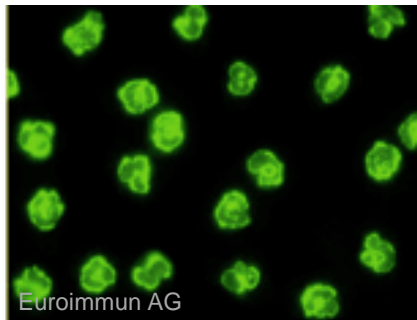
Proteinase 3 (PR3)

Laktoferrin

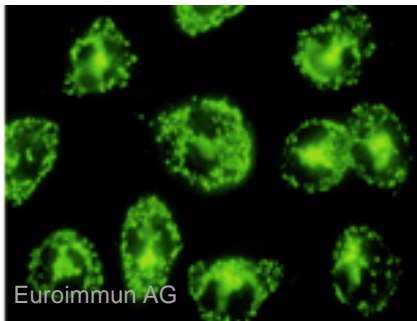
Lysozym

Enolase

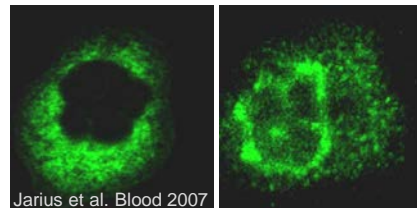
Weitere...



pANCA

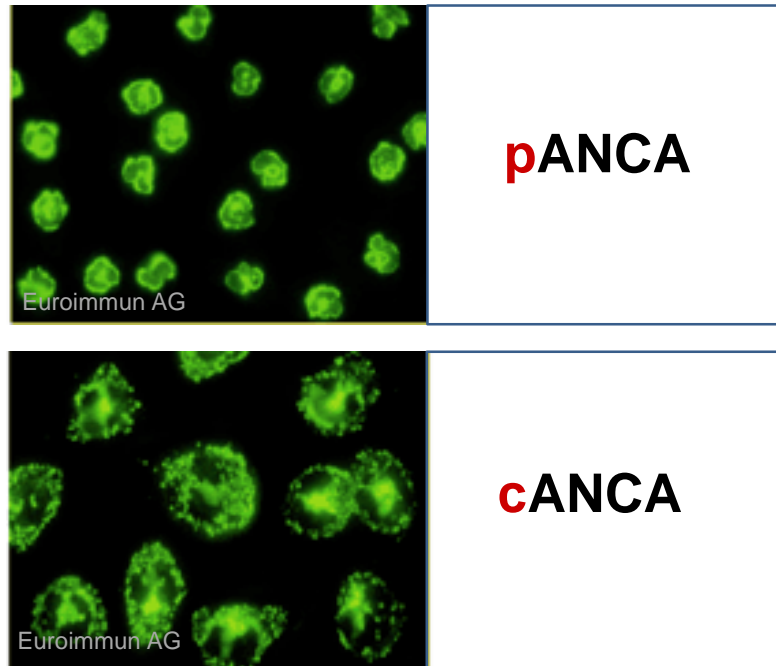


cANCA

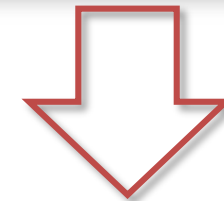


aANCA

2. ANCA-Differenzierung (Immunoassay)



Nachweis der AAK gegen die
Hauptzielantigene:
Myeloperoxidase (MPO),
Proteinase 3 (PR3)



MPO-AAk-ELISA
PR3-AAk-ELISA

Interpretation ANCA – diagnostisch richtungsweisende Konstellationen

1. cANCA vom Typ PR3

→ Patient mit Arthralgien, Sinusitis, Husten,
Atemnot

Ärztlicher Befundbericht



Untersuchung		Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)		1:320		< 1:10
MPO-AAk i.S.	(ELISA)	1.0	U/ml	< 5.0
PR3-AAk i.S.	(ELISA)	>200	U/ml	< 10.0

Interpretation ANCA – diagnostisch richtungsweisende Konstellationen

1. cANCA vom Typ PR3

- in der Regel cANCA-Muster (> 90%)
- diagnostische Marker der **Granulomatose mit Polyangiitis** (früher Wegener Granulomatose) mit einer Spezifität von > 95 %
- Sensitivität abhängig vom Stadium und der Aktivität der Erkrankung:
 - ca. 50 % (inaktive Initialphase)
 - ca. 98 % (aktive Generalisationsphase)
- **manchmal** auch nachweisbar bei **Mikroskopischer Polyangiitis, Eosinophiler Granulomatose mit Polyangiitis, Panarteriitis nodosa**
- auch bei Früh- und Abortivformen zu beobachten

Granulomatose mit Polyangiitis

(GPA; Wegener Granulomatose)

→ nekrotisierende, granulomatöse Entzündung, v.a. im oberen und unteren Respirationstrakt mit Glomerulonephritis und anderen Organmanifestationen

Typische initiale (lokal begrenzte) Manifestationen:

- chronisch-hämorrhagische Rhinitis (blutige Borken /nasale Krusten)
- Sinusitis (borkige Krustenbildung)
- Mittelohrentzündung
- Lungenrundherde
- Ulzerationen der Schleimhaut an Mund und Rachen

ACR-Klassifikationskriterien

(American College of Rheumatology; nach Leavitt et al.; 1990)

1. Entzündung (nasal, oral)
2. Pathologischer Röntgenbefund des Thorax
3. Pathologisches Urinsediment
4. granulomatöse Entzündung in der Biopsie

► *Mindestens 2 von 4 Kriterien machen eine **Granulomatose mit Polyangiitis** wahrscheinlich (Sens: 88 %, Spez: 92 %).*

Interpretation ANCA – diagnostisch richtungsweisende Konstellationen

2. pANCA vom Typ MPO

→ Patient mit Fieber, Gewichtsverlust,
Purpura und Proteinurie

Ärztlicher Befundbericht



Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
CRP i.S. (Turb.)	50.1	mg/l	< 5.0
Rheumafaktoren (quant.) i.S. (Turb.)	116.3	IU/ml	< 14
CCP-AAk (Cycl.Citrull.Peptid) i.S.	0.38	Ratio	< 1.00
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	1:1280		< 1:10
(Spezifität: Formalin-resistent)			
MPO-AAk i.S. (ELISA)	>100.0	U/ml	< 5.0
PR3-AAk i.S. (ELISA)	0.8	U/ml	< 10.0

Interpretation ANCA – diagnostisch richtungsweisende Konstellationen

2. pANCA vom Typ MPO

- in der Regel pANCA-Muster (> 90%)
- diagnostische Marker einer **Mikroskopischen Polyangiitis**
(Spezifität: ca. 99%, Sensitivität: 60-80%) und einer **pauci-immunen fokal nekrotisierenden Glomerulonephritis**
- auch beim **Goodpasture-Syndrom** (30-40%) nachweisbar
- **selten** bei **Granulomatose mit Polyangiitis, Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis** oder **Panarteriitis nodosa** nachweisbar

Mikroskopische Polyangiitis (MPA)

→ nekrotisierende Vaskulitis ohne Granulome und Immunkomplexe, mit rapid progressiver Glomerulonephritis und/oder hämorrhagischer Alveolitis

Klinik (Beispiele):

- Niere (70%): Glomerulonephritis
- Pulmonale Vaskulitis (25%): alveoläre Hämorrhagie
- Hautveränderungen (40%): subkutane Knötchen, palpable Purpura
- rheumatische Beschwerden: Myalgien, Arthralgien
- weitere: Polyneuritis, Sinusitis, Episkleritis

→ Patient mit allergischem Asthma,
erhöhtem Gesamt-IgE und Eosinophilie

Ärztlicher Befundbericht



Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT) (Spezifität: Formalin-resistent)	1:1280		< 1:10
MPO-AAk i.S. (ELISA)	>100.0	U/ml	< 5.0
PR3-AAk i.S. (ELISA)	0.8	U/ml	< 10.0

Spricht der ANCA-Befund eher für das Vorliegen einer
Eosinophilen Granulomatose mit Polyangiitis ?

→ pANCA in 40%, oft vom Typ MPO

Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis (EGPA; Churg-Strauss-Syndrom)

→ granulomatös-nekrotisierende und eosinophilenreiche Entzündung, oft mit Befall des Respirationstraktes, sowie Assoziation mit Asthma bronchiale und Eosinophilie

Triphasischer Verlauf

- a) Allergische Reaktion des HNO-Traktes (Asthma, Sinusitis, Rhinitis)
- b) Eosinophilie
- c) Systemische Vaskulitismanifestationen (v.a. Herz-, Nieren- und Lungenbeteiligung, Neuropathie)

ACR-Klassifikationskriterien

(American College of Rheumatology; nach Masi et al.; 1990)

1. Asthmaanamnese
2. Eosinophilie >10 % im Differenzialblutbild
3. Mono- oder Polyneuropathie
4. flüchtige pulmonale Infiltrate
5. akute oder chronische Nasennebenhöhlenpathologie
6. bioptischer Nachweis von Eosinophilen im extravaskulären Gewebe

► *Mindestens **4 von 6** Kriterien machen das Vorliegen eines Churg-Strauss-Syndroms (jetzt **Eosinophile Granulomatose mit Polyangiitis**) wahrscheinlich.*

Interpretation ANCA – diagnostisch richtungsweisende Konstellationen

3. pANCA (MPO-negativ)

- bei Vaskulitiden, aber auch bei vielen anderen Erkrankungen nachweisbar (Kollagenosen, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, autoimmunen Lebererkrankungen, Infekten)

4. aANCA

- PR3- und MPO-ANCA negativ oder grenzwertig
- kein Hinweis auf eine ANCA-assoziierte Vaskulitis!
- Vorkommen bei: chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, autoimmunen Lebererkrankungen (z.B. PSC, AIH), andere Autoimmunerkrankungen, chronische Infektionen,.....

→ Patient mit erhöhten Leberwerten

Ärztlicher Befundbericht



Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
ASAT (GOT) i.S.	94	U/l	10 - 50
ALAT (GPT) i.S.	204	U/l	10 - 50
GGT i.S.	200	U/l	< 66
Alkalische Phosphatase i.S.	165	U/l	< 130

1. Ausschluss viraler Hepatiden → kein Hinweis

2. Abklärung der Autoantikörper → autoimmune Lebererkrankung?

→ Patient mit erhöhten Leberwerten

Untersuchung	Ergebnis	Einheit	Referenzbereich
AMA (anti-mitochondriale Ak) i.S.	< 1:50		< 1:50
ASMA (glatte Muskulatur-AAk) i.S.	< 1:50		< 1:50
c-ANCA i.S. (IFT)	< 1:10		< 1:10
p-ANCA i.S. (IFT)	1:160		< 1:10
(Spezifität: Formalin-sensibel)			
MPO-AAk i.S. (ELISA)	1.4	U/ml	< 5.0
PR3-AAk i.S. (ELISA)	0.9	U/ml	< 10.0

Bewertung:

- kein Hinweis auf ANCA-assoziierte Vaskulitis
- keine krankheitsspezifischen ANCA
- kann mit Kollagenosen, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, **autoimmunen Lebererkrankungen** oder Infekten assoziiert sein

Wichtiges zur ANCA-Bewertung bei Vorliegen einer ANCA-assoziierten Vaskulitis

- Negative ANCA schließen eine AAV nicht sicher aus.
- Hohe ANCA-Titer sind mit aktiven Phasen der Krankheit assoziiert (eher PR3-ANCA).
- Titeranstiege können Wochen bis Monate einer Verschlechterung der Symptome vorausgehen.
- Ohne ANCA-Anstieg ist ein erneuter Schub eher selten.
- Titeranstieg ohne begleitende Symptomverschlechterung → kein Grund für Verstärkung der Therapie.

Vaskulitis-Diagnostik

- **ANCA** (ANCA-assoziierte Vaskulitiden)

- Anamnese
- Bluteosinophilie (10%) (EGPA)
- Hepatitis-Bs-Antigen (Panarteriitis nodosa)

Aktivitätsparameter:

- Akute-Phase-Proteine (BSG, CRP)
- Komplementabfall
- Leukozytose, Thrombozytose
- ANCA-Titer

ANCA-Zusammenfassung

- ✓ ANCA sind ein wichtiger Baustein der AAV-Diagnostik und differentialdiagnostisch wegweisend!
- ✓ ANCA immer zusammen mit anderen Laboruntersuchungen und Histologie bewerten!
- ✓ Bei Patienten mit systemisch entzündlichen Erkrankungen ohne eindeutigen Fokus sollte immer auch an eine ANCA-assoziierte Vaskulitis gedacht werden!
- ✓ ANCA-Diagnostik → Notfalldiagnostik!