



APN 2007:

Immunologische Diagnostik

TJ Neuhaus, Luzern

W-Neuh-Vorträge-Luzern



Themen

- 1. „Standard-Labor-Batterie“ ...
- 2. Indikation und Nutzen bei DD
 - akutes Nierenversagen
 - Glomerulonephritis (GN)
- 3. Vorstellung von 2 Patienten

Komplement / Gerinnung

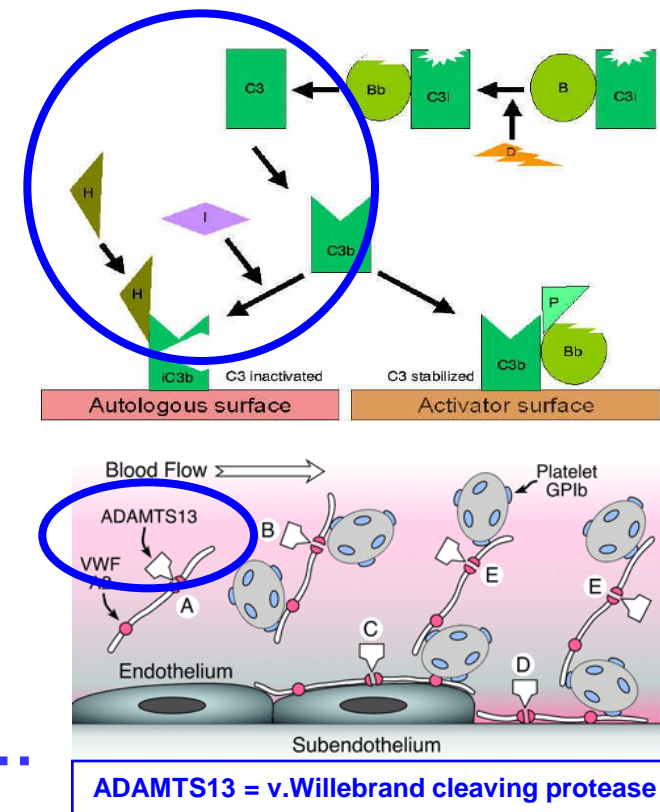
■ Globaltests

- CH 50: Gesamt-Komplement
- AP 50: alternativer Pathway
- C3, C4 (↓ bei $\leq 10\%$ Gesunden)

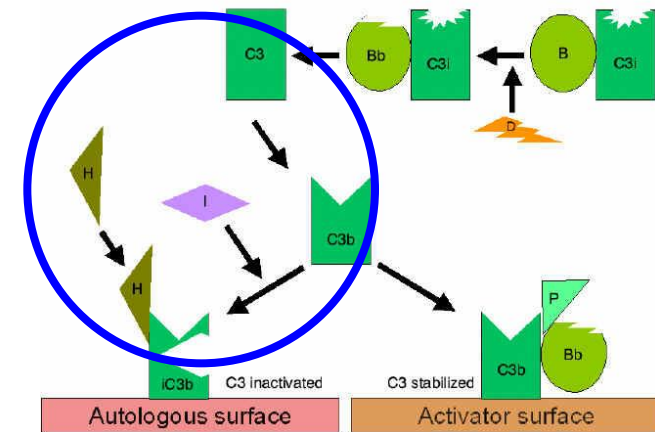
■ Einzelfaktoren: B, H, I / ADAMTS-13 ...

- Quantitativ
- Qualitativ / funktionell
- Genetische Analyse
 - Hetero- / homozygote Mutationen
 - Single nucleotide polymorphisms (SNPs) ??

■ Cave: klinische Relevanz der Befunde ? normal / patholog.

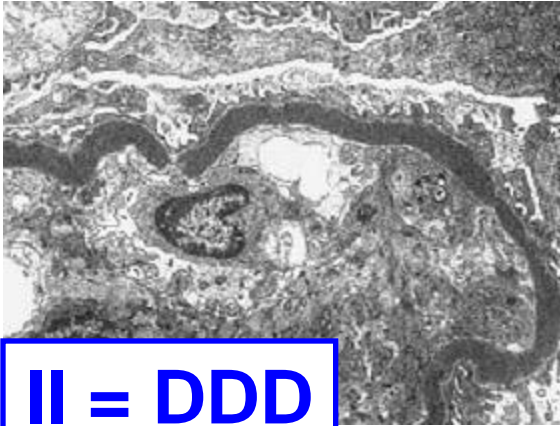


Komplement C3 ↓: DD



- **System. Lupus erythematodes (SLE)**
- **Postinfektiöse GN (transient 6 – 12 Wochen)**
- **Durchfall-negatives = atypisches HUS / TTP**
 - 1° Mangel: Komplementfaktor H, I ...
 - 2° Inhibitoren (Antikörper)
- **Varia/selten: transient ↓ bei D+HUS, Schönlein-Henoch ...**
- **Membrano-proliferative („mesangio-capillary“) GN**
 - Typ I / Typ II (dense deposit disease) / Typ III (?)
 - assoziiert mit Hepatitis C / Kryoglobulinämie

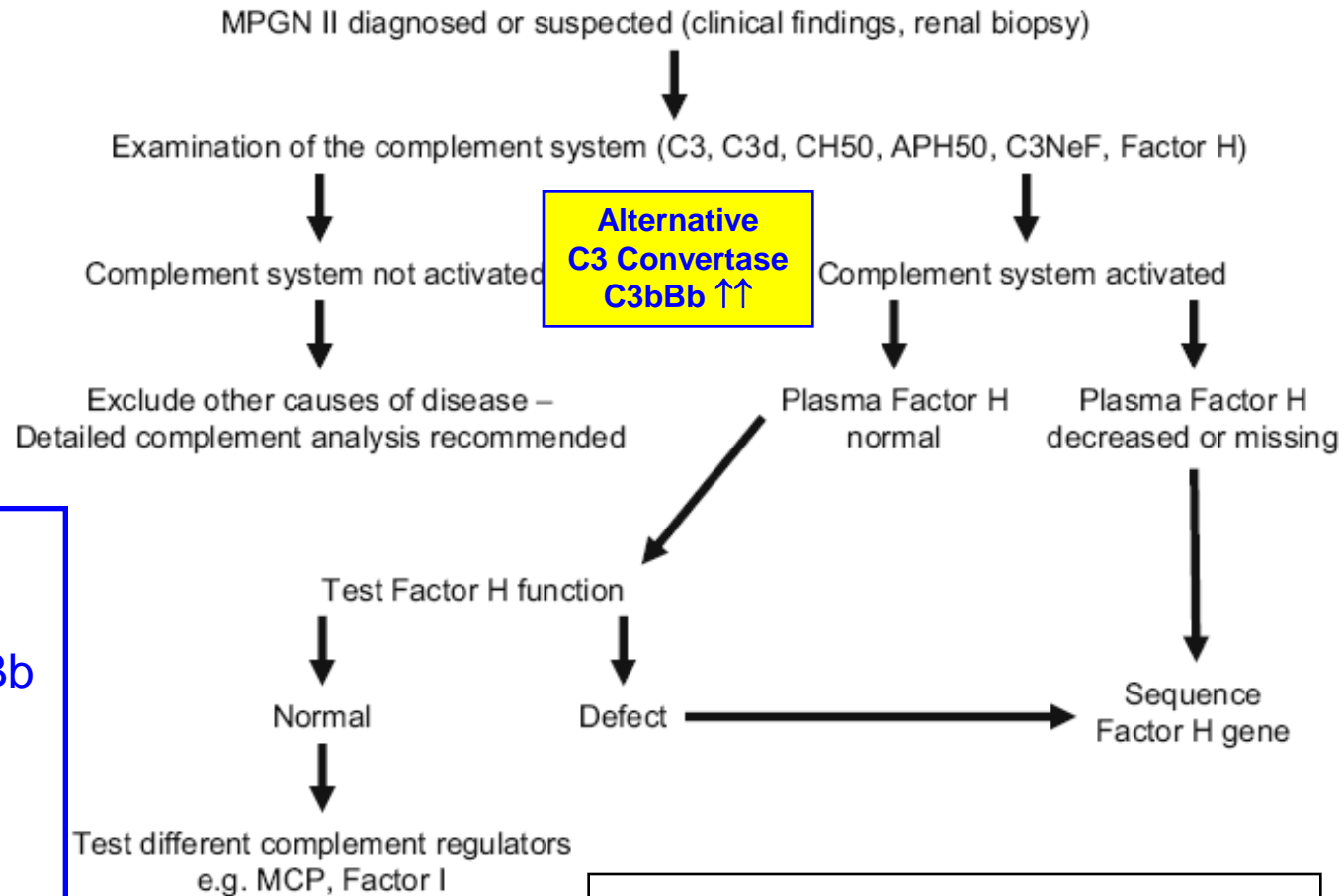
Membranoproliferative GN: Typ II



II = DDD

Einige, nicht alle (!) Patienten:

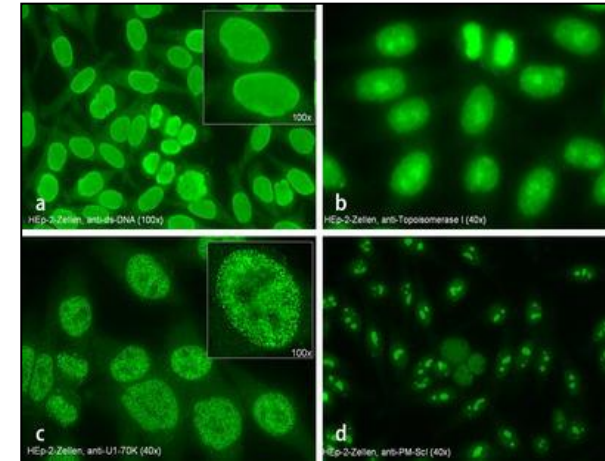
- **C3NeF:** IgG Auto-AK gegen C3bBb
- MPNG Typ II, aber auch Typ I/III
- **Faktor H:** Mutationen / Defekt



Licht et al, Pediatr Nephrol, 2007

Auto-Antikörper: ANA / anti-DNA

- ANA = antinukleäre Antikörper gegen nicht gewebespezifische Bausteine des Chromatins und anderer intranukleärer Proteine



- ANA: Differenzierung nach Antigen-Spezifität

- Anti-dsDNA (anti-double stranded DNA)
- Anti-Ribonukleoproteine

- RNP Protein complexed to U1RNA
- SSA-Ro Protein complexed to 6 Y1-Y5 RNA
- SSB-La Phosphoprotein complexed with RNA
- Sm Protein complexed to 6 species of RNA
- Histone Nuclear protein

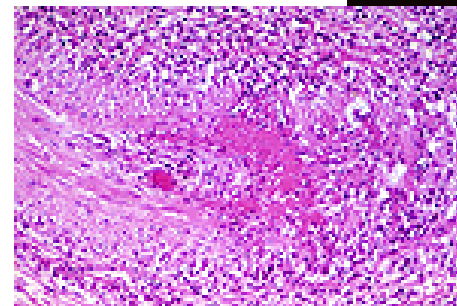
ANA:
Immunfluoreszenz
Hartung/Seelig, 2006

ANA

- **Screening-Test für Autoimmunkrankheiten**
 - sehr sensitiv
 - hoher negativer prädiktiver Wert
 - sehr unspezifisch

- **oft niedrig-titrig ($\leq 1:160$) „falsch-positiv“ bei**
 - Infektionen
 - Medikamente
 - Gesunde > 60 Jahre: 5 – 30%
 - Gesunde Verwandte von SLE-Pat: $\leq 25\%$

ANA + Autoimmunkrankheiten ?

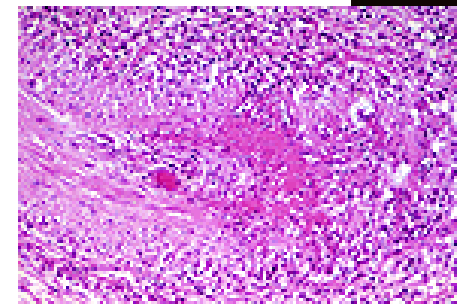


ANA + Autoimmunkrankheiten !



- Lupus erythematoses
 - Systemisch: **SLE**
 - Diskoider und Medikamenten-induzierter LE

- Poly- / Dermatomyositis →
- Juvenile chronische Arthritis (JCA)
- Vasculitis: Polyarteritis nodosa
- Sarkoidose →
- Myasthenia gravis



ANA, anti-DNA + SLE

- 1. ANA: negativ → SLE unwahrscheinlich, nicht unmöglich

Sensitivität Spezifität + prädiktiver Wert

- 2. ds-DNA: **75%** **95%** **95%**
(bei Beginn der Krankheit)

<input type="checkbox"/> RNP	50	99	45 – 85
<input type="checkbox"/> SSA-Ro	25 – 40	90	↓

(„typisch“ bei neonatalem SLE mit AV-Block)

<input type="checkbox"/> SSB-La	15	↓	↓
<input type="checkbox"/> Sm	20 – 30	↑	97
<input type="checkbox"/> Histone	30 – 80	50	↓

Antikörper + post-, para-, infektiöse GN

■ Klassische Post-Streptokokken GN

- Tonsillitis → Anti-Streptolysin = AS(L)O
- Impetigo → Anti-DNAase B
- Titerverlauf der AK und C3 transient ↓

■ andere Infektionen: post-, para-infektiös / infektiös

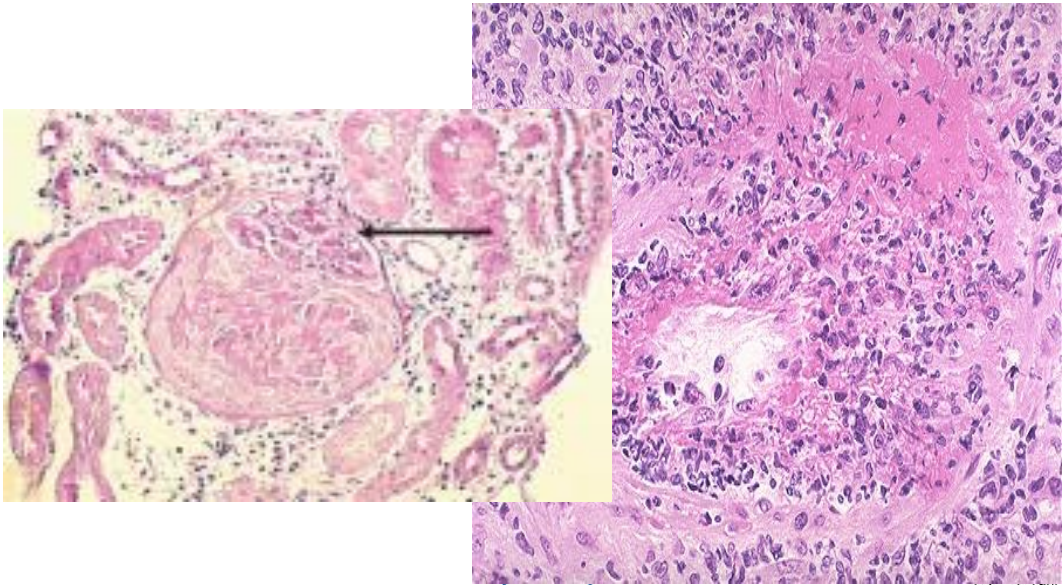
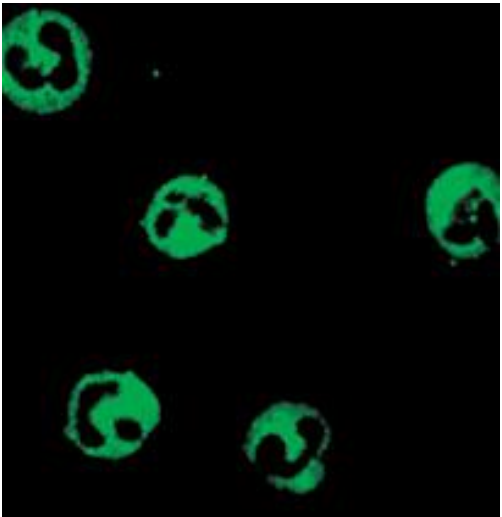
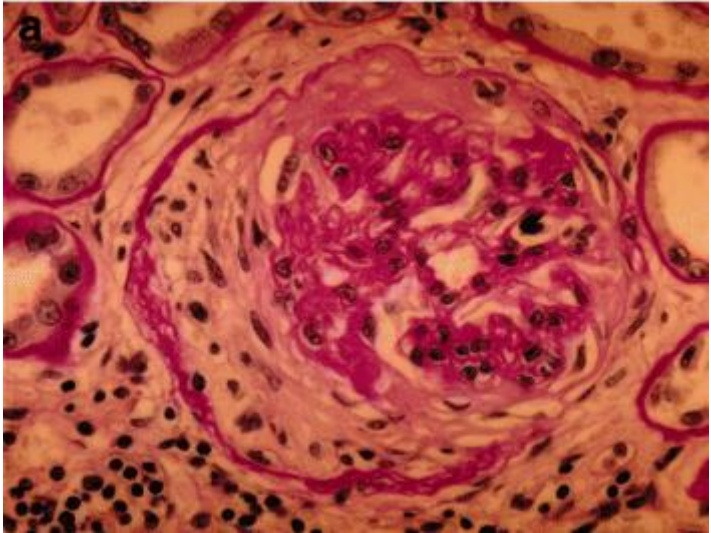
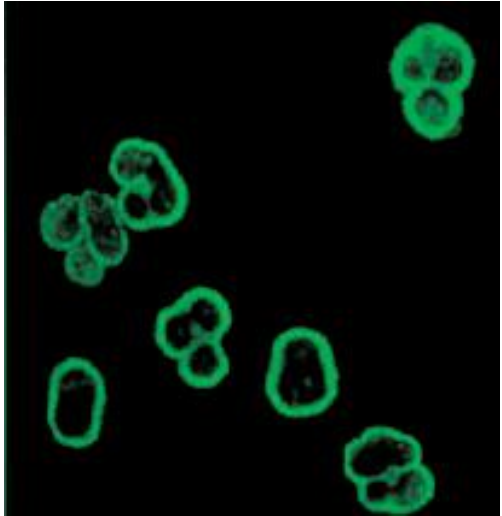
- oft: „unspezifisch“: Luftwege, Darm ...
- selten: Shunt-Infektion, Endokarditis, EBV, CMV, Malaria, HIV (Hantavirus: interstitielle Nephritis)

■ Hepatitis

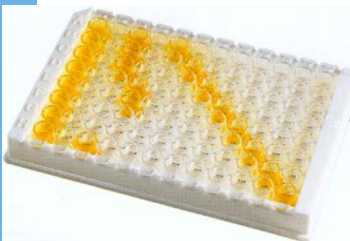
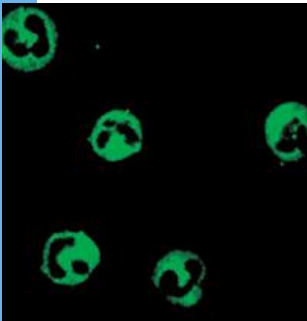
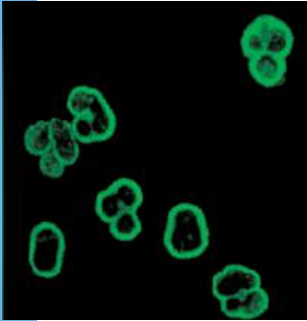
- B: membranöse GN
- C: MPGN Typ I mit Kryoglobulinämie



CR



ANCA: antineutrophil cytoplasmic IgG



■ p-ANCA

- perinuclear / Myeloperoxidase (MPO)
- typisch: microscopic polyangiitis / pauci-immune crescentic GN

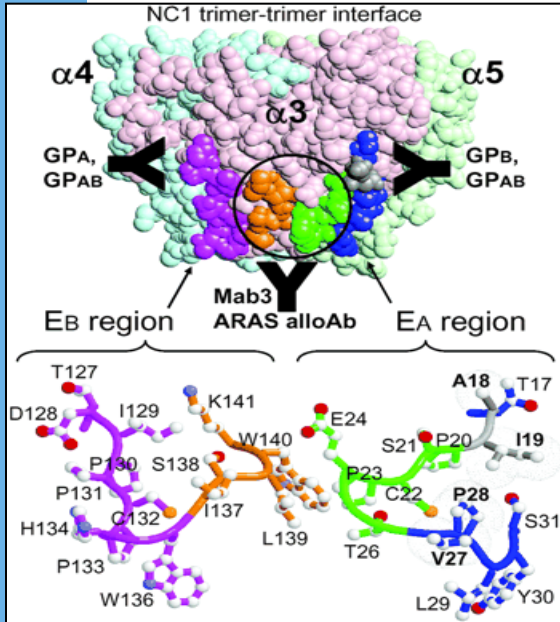
■ c-ANCA

- cytoplasmic / Proteinase 3 (PR3)
- typisch: Wegenersche Granulomatose

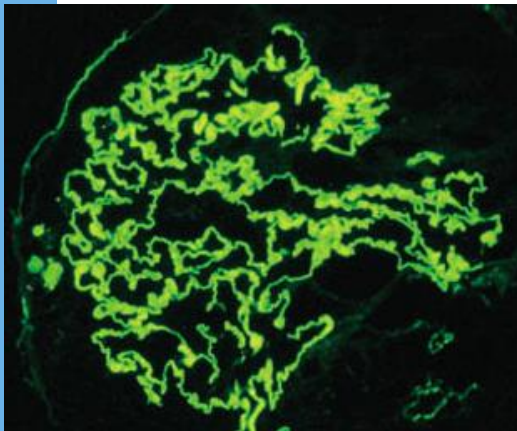
■ Diagnostik: Indirekte IF und ELISA

- Sensitivität: bis 70%
- Spezifität: bis 99%
- IF: oft unspezifisch + (andere Antigene)

Anti-GBM: antiglomer. Basalmembran IgG



Wang et al, 2006



- Pädiatrische Raritäten ...
- Goodpasture Syndrom
 - Anti-GBM **Auto-AK**
 - Antigen = NC1 (non-collagenous) domain: Kollagen IV, **$\alpha 3/5$ Monomer**
 - "**cryptic**" **Epitope**: EA oder EB Region
- Alport-Patienten nach Nieren-TPL
 - GN wegen anti-GBM **Allo-AK**
 - Antigen = NC1 Kollagen IV, **$\alpha 5$ subunit in intaktem Hexamer (NC1 $\alpha 3,5,6$)**
 - Epitop EA

Weitere einfache Tests ...

■ BSR: Blutsenkungsreaktion

- z.B. bei Polyarteritis nodosa einziger pathologischer Laborparameter: *Patient mit Hypertonie und BSR*↑

■ CRP: C-reaktives Protein

- z.B. bei SLE normal; falls ↑ cave Infektion

■ „Typisierungen“ (ohne Transplantation)

- HLA
- ACE-Genotyp: I(nsertion), D(eletion)
→ in der Regel keine klinische Relevanz / Konsequenz

Weitere komplexe Tests ...

- **Vor / nach Nieren-Transplantation: Allo-AK / Bioassay**
- **Alport:** < 5%: Autoimmun GN: anti-GBM +
- **Nephrotisches Syndrom: genetisch**
 - Rezidiv des NS, aber nicht der Grundkrankheit ...
 - Finnischer Typ, v.a. **Finn major** → bis 25%: Anti-Nephrin +
 - **Podocin NPHS2** → selten: Anti-Podocin-AK bisher AK -
 - **Frasier WT-1** → selten: Aetiologie ??
- **Idiopathisches SRNS** → bis 50%: „echtes“ Rezidiv
 - in vitro bioassay: „circulating factor“ ?
 - Sensitivität und Spezifität ↓ ↓

„Standard-Batterie“ plus Kreatinin

**Pädiatrische
Patienten in
Zürich seit 1990**

einige

6

1

1/0

1/0 (1/einige)

0

- Differenziertes Blutbild, Fragmentozyten, LDH
- BSR, CRP
- C3, (C4)
- Reserve-Serum

- **AS(L)O, anti-DNAase B**
- ANA; falls positiv (oder immer !?) →
 - **Anti-DNA**
 - RNP, SSA-Ro, SSB-La, Sm, **Histone** nur bei spez. ?
- **p-ANCA / c-ANCA (IF und ELISA)**
- **Hepatitis B / C („isolierte“ membranöse GN / MPGN)**
- **Anti-GBM**

Patientin 1: 10-jährig

■ Symptome

- Seit 3 d Kopfschmerzen, Erbrechen, Müdigkeit

■ Klinische Befunde

- Reduzierter AZ, einzelne Petechien, geschwollenes Gesicht, Hypertonie: 134/86 mm Hg

■ Labor

- Kreatinin 219 $\mu\text{mol/l}$ = 2,5 mg/dl
- Kalium 7,5 mmol/l / pH 7,35, HCO_3^- 12 mmol/l
- Serum-Eiweiss / -Albumin: 58 / 29 g/l
- Hämoglobin 44 g/l, Thrombozyten 6 G/l
- Urin: Protein 4+, Blut 3+

Patientin 1: DD / Procedere ???

- Verlegung zu uns vor **Feiertags-Wochenende**

Patientin 1: DD

- GN jeglicher Ursache
 - Isoliert
 - Vasculitis
 - ...
- HUS / TTP
- ??

Patientin 1: Labor

- Blutbild
 - Hb 30 g/l, Fragmentozyten ++, Tc 7 G/l
 - Lc 4,5 G/l mit 68% Neutrophilen
- BSR ? CRP < 4 mg/l
- C3: 0,19 g/l, C4 < 0,10 g/l
- LDH > 1000 U/l
- Negative Kulturen: Blut, Urin, Stuhl, Nase, Liquor
- Auto-AK ??
 - Wochenende !! (Analyse: 1 x pro Woche)

Patientin 1: Weitere Untersuchungen

- **Ultraschall Abdomen**
 - grosse hyperechogene Nieren, „Rest“ normal
- **Röntgen Thorax: kein pathologischer Befund**
- **Schädel-CT: normal**
- **Herzecho und EKG bei Eintritt:**
 - Linker Ventrikel leicht vergrössert, normale Funktion
 - Minimaler Perikarderguss
- **Normwerte, resp. negativ:**
 - Gerinnung, Leberenzyme, direkter Coombs, ASLO

Patientin 1: Verlauf

- Anurisches Nierenversagen: Hämofiltration
- Anämie / Tc-penie: Ec- und Tc-Transfusionen
- Infektion: keine Hinweise für Sepsis
- Pulmonal: O₂-Bedarf, aber keine Beatmung
- Kardial: initial Hypertonie
- Therapie
 - Supportiv, präventiv Antibiotika
 - CVVH
 - Keine Immunsuppression

Patientin 1: Verlauf

- Tag 5: klinische Verbesserung, Urinproduktion
- Tag 7: perakute Verschlechterung, Perikarderguss, Herzversagen → Exitus
- Autopsie
- Diagnose ??

Patientin 1: Weitere Infos

- **Auto-AK** (*am Tag 7 eingetroffen ...*)
 - ANA: 1:160
 - Anti-DNA: 1:160, alle Subtypen negativ
- **Komplement Faktor H** (*1 Woche nach Exitus*)
 - normale Quantität / Qualität; kein Gen-Test
- **ADAMTS-13: v. Willebrand cleaving Protease** (*1 Monat...*)
 - < 5% Aktivität, kein Inhibitor nachgewiesen
→ Verdacht auf angeborenen Mangel / Genanalyse ?
- **3 Monate früher: 1. Episode mit transienter N^oinsuffizienz**

Patientin 1: **Diagnose = SLE**

- **Disseminierte thrombotische Mikroangiopathie**
 - klinisch „atypisches HUS“
 - Nieren, Herz, Leber, Pankreas
- **Akutes Nierenversagen**
 - diffus proliferative GN: WHO Klasse IV
- **Polyserositis**
- **Panzytopenie**
- **Herzversagen**
- **und Verdacht auf angeborenen ADAMTS-13 Mangel**

Patientin 2: 6-jährig

■ Symptome

- Seit 3 d Kopfschmerzen, Erbrechen, Müdigkeit

■ Klinische Befunde

- Reduzierter AZ, generalisierte Oedeme
- Hypertonie BD 160/100 mm Hg

■ Labor

- Kreatinin 192 $\mu\text{mol/l}$ = 2,2 mg/dl
- Kalium 5,4 mmol/l
- Serum-Eiweiss 63 g/l
- Hämoglobin 64 g/l, Thrombozyten 60 G/l
- Urin: Protein 2+, Blut 3+

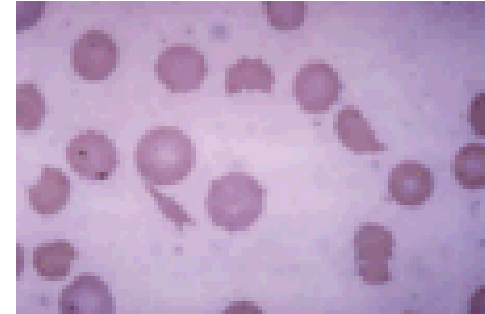
Patientin 2: DD / Procedere ???

Patientin 2: Labor / Befunde

- Blutbild: Fragmentozyten +++
- BSR und CRP ?
- C3 ↓ (0,15 g/l), C4 normal
- LDH 2300 U/l (n < 300)
- ASLO 500 U/ml (n < 200)
- Auto-AK: negativ

- Negative Kulturen
 - Blut, Urin
 - Stuhl, inkl. *E. coli* und Verotoxin

- US: grosse, hyperechogene Nieren



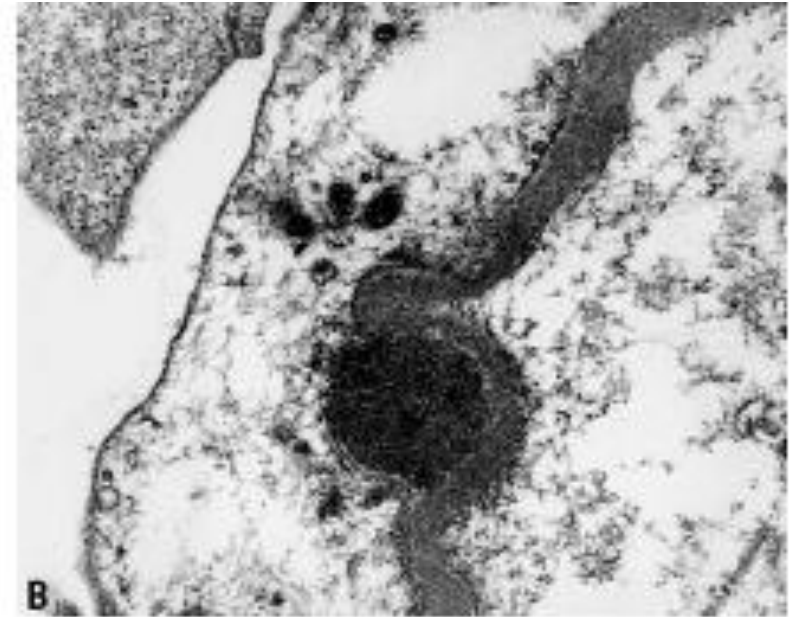
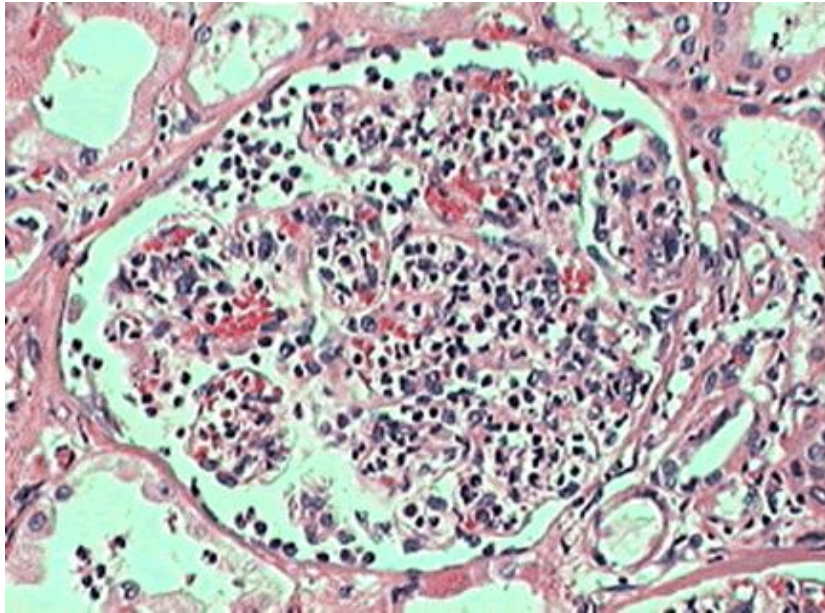
Patientin 2: Verlauf

■ Therapie

- Antihypertensiva: Diuretika, Calcium-Antagonisten
- Flüssigkeitseinschränkung
- Weder Antibiotika noch Immunsuppressiva
- Keine Dialyse

■ Nierenbiopsie ??

Patientin 2: Nierenbiopsie = ?

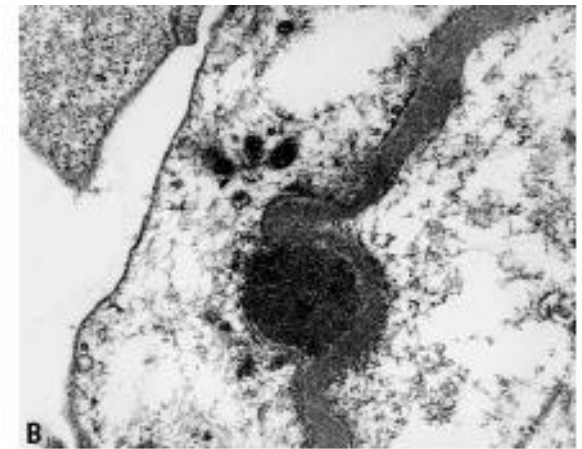
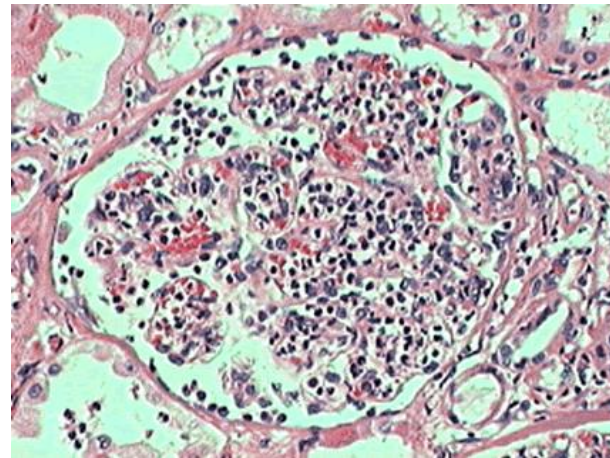
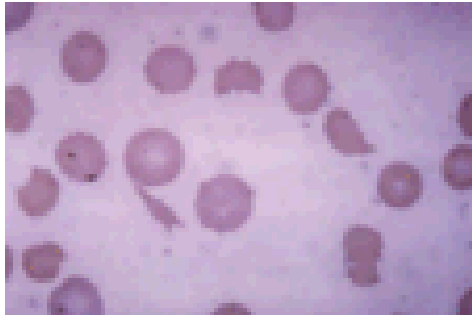


Patientin 2: Diagnose =

1. Durchfall-
negatives HUS

+

2. Post-Streptokokken
Glomerulonephritis



LM: Endokapilläre Proliferation und
neutrophile Granulozyten

EM: subepitheliale Humps

Patientin 2: Verlauf

- Nach 3 Monaten
 - Nierenfunktion wieder normal
 - C3 weiterhin ↓ : 0,4 g/l
- Nach 2 Jahren
 - Nierenfunktion normal
 - C3 normal
- Prognose gut
 - wie erwartet bei *postinfektiöser GN*
 - eher ungewöhnlich bei *D-negativem HUS*

Take home message

- Akute GN / SLE / Vasculitis ist bei Kindern selten
- Immer ganze DD berücksichtigen, inkl. HUS / Infektionen
- Immunologische „Standard-Labor-Batterie“ indiziert
- Falls C3 ↓
 - immer **sofort** SLE suchen ... → therap. Konsequenz
- Gute Kommunikation mit „Labors“: Spezialwünsche ...

