

Neuartige Marker in der Diagnostik der Zöliakie: Antikörper gegen deamidierte Gliadinpeptide

Jörg Hasler

Zusammenfassung

Das traditionelle serologische Zöliakietestpaket besteht einerseits aus dem hochspezifischen und auch sehr sensitiven Test auf IgA gegen Gewebs-Transglutaminase (tTG) und andererseits aus zwei unbefriedigenden Tests, die eindeutig zu viele falsch positive und falsch negative Ergebnisse produzieren: IgG und IgA gegen Gliadin. Bei diesen beiden Assays wird natives – also unverändertes – Gliadin als Antigen eingesetzt. Das Modell der Pathogenese der Zöliakie legt nahe, dass dieses Antigen inadäquat ist und dass deamidiertes Gliadin das adäquate Antigen wäre. Tatsächlich weisen die kürzlich konzipierten Assays, die auf deamidierten Gliadinpeptiden (DGP) basieren, Charakteristika auf, die denjenigen des tTG-IgA-Assays ebenbürtig sind. Die Substitution der Tests mit nativem Gliadin durch diejenigen mit DGP ergibt ein neues Zöliakietestpaket:

Es umfasst drei sehr spezifische und sehr sensitive Assays und führt damit zu einer grundlegenden Verbesserung und Vereinfachung der Zöliakiediagnostik.

Background

Die Zöliakie (Synonym: einheimische Sprue) ist eine Enteropathie mit Dünndarmzotten-Atrophie aufgrund eines Autoimmunprozesses. Dieser wird bei genetisch prädisponierten Personen (beispielsweise Vorhandensein von HLA-DQ2 oder/und HLA-DQ8) ausgelöst und aufrechterhalten durch die Einnahme gliadinhaltigen Getreides – Weizen (inklusive alter Weizensorten wie Dinkel, Einkorn, Emmer und

Kamut), Roggen und Gerste –, vorhanden in einer verwirrenden Vielfalt von Lebensmitteln. Hafer enthält anstelle des Gliadins Avenin, das, wenn auch wesentlich seltener, ähnliche Störungen zur Folge hat (Haferprodukte sind zudem meist mit gliadinhaltigem Getreide kontaminiert). Dagegen enthalten die anderen Getreidegattungen (wie Reis und Mais) keine Inhaltsstoffe, die Zöliakie verursachen; dies gilt auch für Pseudogetreide (wie Buchweizen und Amarant) und für die übrigen Spisepflanzen.

Nach aktuellsten Reihenuntersuchungen sind von der Zöliakie rund 1% aller Personen betroffen; die Zöliakie stellt damit eines der häufigsten lebenslangen gesundheitlichen Probleme dar [1]. Entdeckt wird sie aber lediglich bei rund 10–20% der Betroffenen. Einer der Gründe dafür, dass viele Fälle von Zöliakie nicht erkannt werden, ist sicher die unübersichtlich vielgestaltige Symptomatik dieser Krankheit: Neben den typischen Malabsorptionssymptomen (chronische Diarrhoe, vorgewölbttes Abdomen aufgrund massiv gefüllter Darmschlingen, Gewichtsverlust usw.) kommen atypische, assoziierte, jegliche Organsysteme betreffende Symptome und Symptomenkomplexe vor, beispielsweise Dermatitis herpetiformis, Diabetes mellitus Typ I, Autoimmunschildrüsenerkrankungen, Knochenkrankungen (z.B. Oropharynx-, Ösophagus-, Dünndarmkarzinom), Colon-irritabile-ähnliche Erscheinungen, Fehlgeburten, neurologische Symptome (z.B. Polyneuropathie, Epilepsie), chronische Müdigkeit und Verhaltensveränderungen [2]. Dabei ist das typische klinische Bild (Malabsorptionssyndrom) oft fast nicht erkennbar oder fehlt eventuell sogar ganz. Die

Zöliakie kann auch über längere Zeit in einer latenten Form vorhanden sein.

Bei Zöliakie auftretende Antikörper

Die Pathogenese der Zöliakie ist in Teilen aufgeklärt [2–5]: Nach der Resorption wird Gliadin in der Lamina propria der Darmmukosa durch die Gewebs-Transglutaminase (tTG) zu deamidiertem Gliadin umgestaltet; dabei werden bestimmte Glutaminsäureresiduen (elektrisch neutral) durch Glutaminsäureresiduen (negativ geladen) ersetzt. Bruchstücke (Peptide) des derart umgebauten Gliadins passen bei genetischer Prädisposition (Vorhandensein von HLA-DQ2 oder/und -DQ8) in die antigenbindende Grube der HLA-DQ2/8-Moleküle der antigenpräsentierenden Zellen und werden so den Helfer-T-Zellen dargeboten, was zur Aktivierung von für deamidiertes Gliadin spezifischen Helfer-T-Zellen führt. Eine facettenreiche Immunantwort kann so in Gang kommen und vielfältige pathologische Gewebsveränderungen (z.B. Zottenatrophie) nach sich ziehen. Bestandteile dieser Immunantwort sind Antikörper gegen das – durch die tTG erzeugte – deamidierte Gliadin und auch Antikörper gegen die tTG selbst.

Das Auftreten dieser Antikörper (IgA, IgG) im Blut wird zu diagnostischen Zwecken genutzt. Für den Nachweis der gegen deamidiertes Gliadin gerichteten Antikörper wurde freilich bisher, historisch bedingt, ein inadäquates Antigenpräparat eingesetzt: natives, unverändertes Gliadin anstatt deamidierten Gliadins. Das funktionierte zwar halbwegs, aber die Spezifität (rund 85% [2]) und die Sensitivität (rund 80% [2]) waren ungenügend (zu viele falsch positive und falsch negative Resultate).

Unentbehrlich: Zöliakietests mit deamidierten Gliadinpeptiden (DGP)

Experimente bestätigten, dass die bei Zöliakiepatienten vorhandenen Gliadinantikörper mit nativem Gliadin nicht besonders gut, mit deamidiertem Gliadin jedoch wesentlich stärker reagieren; bei Personen ohne Zöliakie eventuell vorhandene Gliadinantikörper hingegen reagieren mit deamidiertem Gliadin nicht stärker [4, 5]. 2004 wurde ein (noch nicht routine-tauglicher) Zöliakietest entwickelt, der mit deamidierten Gliadinpeptiden (DGP) arbeitet; bei der Herstellung dieses Antigenpräparats wurde gezielt die Aktion der tTG imitiert [3]. Falsch positive und falsch negative Ergebnisse traten bei diesem Test nur selten auf.

Die Firma INOVA Diagnostics (San Diego, CA, USA) griff dieses Konzept auf, optimierte es und bietet jetzt für die Routinediagnostik einen Test für IgG und einen für IgA gegen DGP an. Diese Tests werden, basierend auf 103 mittels Dünndarmbiopsie bestätigten Zöliakiefällen und 114 Personen ohne Zöliakie, von INOVA wie folgt charakterisiert:

- Spezifität: DGP-IgG 98%,
DGP-IgA 98%;
- Sensitivität: DGP-IgG 92%,
DGP-IgA 95%.

Auf ähnlich gute – zum Teil sogar noch etwas bessere – Werte kommen zwei Studien (präsentiert als Poster), durchgeführt von E. Sugai et al. und S. Niveloni et al. am Dr.-Carlos-Bonorino-Udaondo-Krankenhaus für Gastroenterologie in Buenos Aires, Argentinien:

- Spezifität: DGP-IgG 100%,
DGP-IgA 94–99%;
- Sensitivität: DGP-IgG 92–97%,
DGP-IgA 95–98%.

Diese Zahlen basieren auf 92 (Sugai et al.) bzw. 60 (Niveloni et al.) Patienten mit neu diagnostizierter Zöliakie und 113 bzw. 81 Patienten mit anderen gastroenterologischen Erkrankungen; bei der Untersuchung von Niveloni et al. bestand bei allen 141 Patienten der klinische Verdacht auf eine Dünndarmkrankheit. Bei den beiden Studien wurden sämtliche 346 Patienten einer Dünndarmbiopsie unterzogen. Eine andere Untersuchung zeigt, dass

mit diesen neuartigen Assays bedeutend weniger unklare Fälle auftreten als bisher [6]. 44 sowohl für tTG-IgA als auch für Endomysium-IgA positive Seren («Zöliakieseren») und 110 sowohl tTG-IgA- als auch Endomysium-IgA-negative Seren («Nicht-Zöliakieseren») wurden dabei geprüft (Anmerkung: der Test auf IgA gegen tTG, der mit humaner tTG arbeitet, hat eine Spezifität von ca. 99% und eine Sensitivität von ca. 95% [7, 8]; annähernd so gute Werte weist der Test auf IgA gegen Endomysium auf, der – die Bezeichnung «Endomysium» ist etwas verwirrend – ebenfalls IgA gegen tTG misst, jedoch mittels eines geeigneten Primatengewebeschnitts). Die Resultate der Untersuchung sind bemerkenswert:

- Von den 44 Zöliakieseren waren nur 32 sowohl für IgG als auch für IgA gegen natives Gliadin positiv; die restlichen 12 Seren (27,3%) ergaben folglich mit den herkömmlichen, natives Gliadin verwendenden Assays diskrepante Befunde (IgG oder/und IgA negativ). Im Gegensatz dazu waren 41 der 44 Seren sowohl DGP-IgG- als auch DGP-IgA-positiv; mit den neuen Assays ergaben somit nur 3 Seren (6,8%) diskrepante Befunde.
- Eine noch stärkere Reduktion der unklaren Ergebniskonstellationen zeigte sich bei den 110 Nicht-Zöliakie-Seren: Hier wurden mit den herkömmlichen Tests 50,9%, mit den neuen Tests hingegen lediglich 2,7% diskrepante Befunde beobachtet.

Sicher sind weitere Studien erforderlich, um die Charakteristika der neuen Tests noch genauer zu bestimmen (z.B. Untersuchung verschiedener Patientenaltersklassen). Die vorliegenden Daten machen aber deutlich, dass Assays mit DGP solchen mit nativem Gliadin beträchtlich überlegen sind.

Zusätzliche Dünndarmbiopsie: wann nötig, wann nicht?

Die Dünndarmbiopsie gilt gegenwärtig noch, obwohl oft nicht zu einem sicheren Urteil führend [8–10], als der diagnostische Goldstandard. In welchen Situationen zusätzlich zu den Antikörpertests eine Biopsie für eine hinreichende Zöliakieabklärung notwen-

dig ist, ist in der Literatur strittig – bei Zöliakieverdacht werden recht unterschiedliche Abklärungsstrategien vorgeschlagen [2, 9, 10]:

- Gewisse Autoren [9, 10] erachten eine Biopsie normalerweise dann nicht als angezeigt, wenn von den Zöliakieantikörpertests entweder alle negativ oder alle positiv sind.
- Andere Autoren [2] erachten eine Biopsie normalerweise nur dann nicht als angezeigt, wenn aufgrund von Klinik/Anamnese eine Zöliakie nur geringgradig wahrscheinlich ist und zudem von den Zöliakieantikörpertests alle negativ sind.

Das Zöliakieantikörpertest-Paket beinhaltet neu – nach Substitution der Assays mit nativem Gliadin durch diejenigen mit DGP – die folgenden drei Marker, für deren Bestimmung insgesamt 1,5 ml Serum benötigt werden:

- IgA gegen tTG;
- IgG gegen DGP;
- IgA gegen DGP.

Diese drei Marker sollten immer zusammen bestimmt werden, da es keinen Einzeltest gibt, der eine Spezifität von 100% und gleichzeitig eine Sensitivität von 100% hat. Wenn z.B. bloss auf IgA gegen tTG getestet würde, würde im untersuchten Patientenkollektiv jeder zwanzigste Zöliakiefall verpasst; zudem wäre der Vorhersagewert eines positiven Testergebnisses nur wenig höher als 80%, und zwar unter der – günstigen – Voraussetzung, dass im untersuchten Patientenkollektiv die Personen ohne Zöliakie lediglich zwanzigmal häufiger sind als die Zöliakiefälle.

Unabhängig davon, welcher der unterschiedlichen Zöliakie-Abklärungsstrategien [2, 9, 10] man den Vorzug einräumt, führt die Anwendung des erneuerten Zöliakieantikörpertest-Pakets dank der starken Reduktion der diskrepanten Befunde

- zu einer starken Reduktion der notwendigen Biopsien;
- zu erheblich geringeren Kosten für die Diagnostik;
- zu deutlich weniger Unannehmlichkeiten für Patienten und Ärzte.

Beim Testen auf Gliadinantikörper im Zusammenhang mit Zöliakie werden

heute zum Teil noch Assays mit nativem Gliadin und zum Teil bereits Assays mit DGP verwendet. Es empfiehlt sich somit, bei Unklarheiten präzise nachzufragen, was im betreffenden Fall unter «Gliadin» zu verstehen ist.

Korrespondenz:
Jörg Hasler, med. vet.
Alderstrasse 36
8008 Zürich
joerg.hasler@besonet.ch

Literatur

- 1 Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of Celiac disease among children in Finland. *N Engl J Med*. 2003;348(25):2517–24.
- 2 Farrell RJ, Kelly CP. Celiac sprue. *N Engl J Med*. 2002;346(3):180–8.
- 3 Schwertz E, Kahlenberg F, Sack U, Richter T, Stern M, Conrad K, et al. Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clin Chem*. 2004;50(12):2370–5.
- 4 Aleanzi M, Demonte AM, Esper C, Garcilazo S, Waggener M. Celiac disease: antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides. *Clin Chem*. 2001;47(11):2023–8.
- 5 Osman AA, Gunnel T, Dietl A, Uhlig HH, Amin M, Fleckenstein B, et al. B cell epitopes of gliadin. *Clin Exp Immunol*. 2000;121(2):248–54.
- 6 Prince HE. Evaluation of the INOVA Diagnostics enzyme-linked immunosorbent assay kits for measuring serum immunoglobulin G (IgG) and IgA to deamidated gliadin peptides. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13(1):150–1.
- 7 Burgin-Wolff A, Dahlbom I, Hadziselimovic F, Petersson CJ. Antibodies against human tissue transglutaminase and endomysium in diagnosing and monitoring coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2002;37(6):685–91.
- 8 Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabo I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2005;17(1):85–91.
- 9 Hadziselimovic F, Burgin-Wolff A. Coeliac disease. *Lancet* 1998;351(9095):62–3.
- 10 Burgin-Wolff A, Hadziselimovic F. Coeliac disease. *Lancet* 2003;362(9393):1418–9.