



Lupusantikoagulant

Indikationen

Verdacht auf primäres APS (PAPS, Patienten unter 45 Jahren mit gehäuft auftretenden tiefen Beinvenenthrombosen oder arteriellen Thrombosen, Infarkten bei Abwesenheit bekannter Risikofaktoren, habituelle Aborte, insbesondere intrazerebrale Thrombosen, akutes Lungenversagen, fetales Distress-Syndrom, Livedo reticularis (Sneddon-Syndrom). Bei neurologischen Manifestationen (Chorea, Migräne, Multiinfarkt-Demenz, transverse Myelitis) sollte bei fehlenden bekannten Ursachen oder Risikofaktoren differentialdiagnostisch das APS erwogen werden. Verdacht auf sekundäres APS (SAPS, Thrombosen oder Vaskulopathien) bei SLE oder anderen Kollagenosen. Risikoeinschätzung bezüglich Thrombophilie und Abortneigung bei Risikogruppen (SLE, Kollagenosen). Rezidivierende Thrombozytopenien unklarer Genese. Bei Multiorgan-Thrombosen DD katastrophales APS, thrombotische thrombozytopenische Purpura, disseminierte intravaskuläre Gerinnung.

Der Lupusantikoagulant-Test hat eine geringere diagnostische Sensitivität aber eine höhere Spezifität als die Cardiolipin- oder andere Phospholipid-Autoantikörper. Es besitzt unter den Phospholipid-Antikörpern den höchsten prädiktiven Wert bezüglich des Thromboserisikos bei Phospholipid-Antikörper-positiven Patienten.

Das Lupusantikoagulant besitzt unter den verschiedenen anti-Phospholipid-Antikörpern den höchsten prädiktiven Wert für das Thromboserisiko bei Phospholipidantikörper positiven Patienten. Es wird angeregt, dass alle Patienten mit den klinischen Symptomen eines Anti-Phospholipidsyndroms auf die Anwesenheit dieses Antikörpers untersucht werden. Der prädiktive Wert der Cardiolipin-Antikörper für die Voraussage eines Thromboserisikos wird nicht einheitlich positiv beurteilt. Gleiches gilt für die Annahme, dass anti- β 2-Glykoprotein I und anti-Prothrombin unabhängige Risikofaktoren für Thrombosen darstellen.

Immunpathologie

Unter dem Begriff Lupusantikoagulant (Feinstein und Rappaport, 1972) werden verschiedene Autoantikörper zusammengefasst, welche die Gerinnungszeit Phospholipid-abhängiger Gerinnungstests verlängern. Das Lupusantikoagulant ist kein biochemisch und molekularbiologisch beschreibbarer Testparameter, sondern das in Phospholipid-abhängigen Gerinnungstests auftretende Phänomen der verlängerten Gerinnungszeit, hervorgerufen durch eine von Patient zu Patient unterschiedliche Mischung von Antikörpern verschiedener Molekülspezifitäten (z. B. gegen β 2-Glykoprotein I, Prothrombin, Annexin V, Protein C u. a.), Epitopspezifitäten, Antikörper-Isotypen, -Avidität und -Konzentration. Aus diesem Grund können einerseits die Sensitivität und Spezifität der gleichen Nachweismethode von Patient zu Patient variieren, was auch in der Forderung der Standardisierungskommissionen nach mindestens zwei Testen zum Ausdruck gebracht wird, andererseits von Labor zu Labor außerordentlich variierende Testergebnisse erhalten werden, was die unterschiedlichen Angaben über die Prävalenz des Lupusantikoagulant bei verschiedenen Grundkrankheiten erklärt. Nicht minder komplex sind die immunpathologischen Phänomene. Im Gegensatz zu der *in vitro* vorhandenen Hemmung der Phospholipid-abhängigen Gerinnung erkranken Patienten mit Lupusantikoagulant und anderen Phospholipid- (Cardiolipin- oder β 2-Glykoprotein I)-Autoantikörpern nicht an einer hämorrhagischen Diathese sondern an dem primären oder sekundären Antiphospholipid-Syndrom, dem prokoagulatorischen Status einer Thrombophilie.

Die Pathomechanismen der *in vitro* und *in vivo* gegensätzlichen Effekte des Lupusantikoagulant konnten bisher nicht vollständig aufgeklärt werden. Wahrscheinlich werden auch wegen der individuell unterschiedlichen Antikörper verschiedene immunpathologische Reaktionswege beschritten.

Die im Lupusantikoagulant vorkommenden, meist speziesspezifischen Antikörper richten sich nicht gegen die Phospholipide sondern gegen Phospholipid-bindende Proteine des Gerinnungssystems, möglicherweise auch gegen Neoepitope die diese Proteine nach Bindung an Phospholipide ausbilden. Häufig finden sich Antikörper gegen Prothrombin (bis 75 %, siehe



Lupusantikoagulant

auch Prothrombin-Autoantikörper) und/oder β 2-Glykoprotein I (β 2GPI, Apolipoprotein H, siehe auch β 2-Glykoprotein 1-Autoantikörper), seltener sind Antikörper gegen Annexin V, Komplementfaktor H, hoch- und niedermolekulares Kininogen, Protein C, Protein S, Faktor X, Faktor XI. Die Bindung bivalenter Autoantikörper an die Prothrombin bzw. β 2-GPI-Komplexe verstärkt und stabilisiert die primär schwachen Phospholipid-Protein-Bindungen (verlangsamte Dissoziation), sodass in dem geschlossenen System der Phospholipid-abhängigen Gerinnungstests jetzt weniger katalytisch aktive Phospholipid-Bindungsstellen für Gerinnungsfaktoren (Tenase-/ Prothrombinasekomplexe) zur Verfügung stehen. Prothrombin bindet in Anwesenheit von Ca^{2+} an anionische Phospholipide, insbesondere an Phosphatidylserin, β 2GPI an Phosphatidylserin und Phosphatidylinositol. Neben den Antikörpern, die den Protein-Phospholipid-Komplex stabilisieren und dadurch Lupusantikoagulant-Aktivität entwickeln, finden sich auch Antikörper gegen Prothrombin und β 2GPI, die gegen andere Epitope gerichtet sind, keine stabilisierende Wirkung und daher auch keine Lupusantikoagulant-Aktivität besitzen. Sie können jedoch z. B. mit Prothrombin Immunkomplexe bilden, die zu einer beschleunigten Elimination von Prothrombin und dadurch zu einer Hypoprothrombinämie führen (hämorrhagische Diathese, mukokutane Blutungen, Mischungstest mit Normalserum korrigiert die verlängerte Gerinnungszeit). Niedrige Prothrombinspiegel wurden bei etwa 25 % der Patienten mit Lupusantikoagulant gemessen. Die kompetitive Verdrängung von Phospholipiden aus den Phospholipid-abhängigen Tenase- und Prothrombinasekomplexen führt zu einer Verlängerung der Gerinnungszeit Phospholipid-abhängiger Testsysteme. Die Antigenspezifität der im Lupusantikoagulant vorhandenen Antikörper beeinflusst das Testergebnis. Die Kaolin-Gerinnungszeit wird am stärksten durch Antikörper gegen Prothrombin verlängert, die verdünnte Russel Viper Venum-Zeit dagegen durch Antikörper gegen β 2-Glykoprotein.

Die Pathogenese der mit dem Lupusantikoagulant assoziierten Thrombophilie ist bisher noch weitgehend ungeklärt. Zahlreiche pathogenetische Möglichkeiten werden diskutiert. Bei Anwesenheit von Lupusantikoagulant (d. h. von Prothrombinantikörpern) könnte Prothrombin vermehrt und verstärkt an Phospholipide der Endothelien binden und eine vermehrte Produktion von Thrombin auslösen. Lupusantikoagulant hemmt möglicherweise die Freisetzung des antikoagulatorischen Prostacyclins, die Endothelzellen-Thrombomodulin-abhängige Aktivierung von Protein C und damit die Inaktivierung von Faktor Va durch den Protein C / Protein S-Komplex. Niedrige Protein S-Konzentrationen wurden bei einigen Patienten mit Lupusantikoagulant gemessen. Lupusantikoagulant-positive Patienten können Antikörper gegen Phosphatidylethanolamin bilden, wodurch die besonders Phosphatidylethanolamin-abhängige Aktivierung von Protein C gestört werden könnte. Antikörper gegen β 2GPI könnten die mögliche β 2GPI-abhängige Kontrolle der Expression anionischer Phospholipide auf aktivierten Thrombozyten verhindern. Sie können möglicherweise auch an neutrophile Leukozyten binden, diese aktivieren und zur Glycosaminoglycan-Freisetzung veranlassen, was die Thrombozytenanlagerung und -Aggregation fördern würde. Diskutiert werden auch eine mögliche Aktivierung von Endothelzellen (Freisetzung von tissue factor) durch das Lupusantikoagulant. Lupusantikoagulant förderte die Thrombozytenaggregation bei unterschwelligen ADP- und Epinephrin-Konzentrationen. Antikörper gegen Annexin V könnten dieses von den Epithelien verdrängen und so einen pro koagulatorischen Status schaffen. Ebenso könnten die bei einigen Patienten nachweisbaren Antikörper gegen Lysobiphosphatidylsäure, einem Bestandteil der endozytotischen Vesikel, den Vesikeltransport derart stören, dass eine Versorgung wichtiger Zentren mit Wachstumsfaktoren oder lysosomalen Enzymen u. ä. unterbleibt, der Lipidaufbau der Endothelzellmembran gestört wird und so ein prokoagulatorischer Status entsteht. Weiterhin werden Störungen des endothelialen Heparan-Sulfat-AT3-Systems, Störungen der Endothelien-Thrombozyten-Balance (Thromboxan A2 / Prostacyclin) diskutiert.



Lupusantikoagulant

Vorkommen

Das Lupusantikoagulant ist der häufigste erworbene Hemmkörper der Gerinnung. Seine Abgrenzung von anderen Hemmkörpern (z. B. Faktor VIII-Inhibitor) ist notwendig, da bei den letzteren das Risiko einer starken Blutungsneigung besteht. Die Prävalenz von Lupusantikoagulant bei der gesunden Bevölkerung wird mit 3,6 % angegeben (KCT-Methode).

Das Lupusantikoagulant bzw. Cardiolipin-Autoantikörper, die bei etwa 60 % der Patienten zusammen vorkommen, sind diagnostische Marker des primären oder sekundären Anti-Phospholipid-Syndroms (früher Anti-Cardiolipin-Syndrom; ursprünglicher Symptomenkomplex: venöse und arterielle Thrombosen, rekurrende Aborte, Thrombozytopenie). Die Diagnose des Anti-Phospholipid-Syndroms erfordert den zweimaligen Nachweis eines dieser Antikörper in einem Zeitintervall von mindestens sechs Wochen. Das sekundäre Antiphospholipid-Syndrom tritt zumeist im Gefolge von Autoimmunerkrankungen auf (systemischer Lupus erythematodes, hämolytische Anämie, idiopathische thrombozytopenische Purpura, idiopathische juvenile Arthritis, rheumatoide Arthritis, Sklerodermie, Behçet Syndrom, Polymyalgia rheumatica, Osteoarthritis, Lupus discoides, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, toxic oil syndrom, Raynaud-Phänomen, Riesenzelleriitis, Morbus Crohn, Diabetes mellitus Typ 1). Lupusantikoagulant und / oder Cardiolipin-Antikörper sind eines der ACR-Kriterien des SLE. Die Prävalenz des Lupusantikoagulant bei SLE wird zwischen 6 - 65 % angegeben (im Mittel 45 % bei gesichertem oder beginnendem SLE), was die unterschiedliche Sensitivität der verschiedenen Tests widerspiegelt. Befallen werden vorwiegend Frauen im jugendlichen bis mittleren Erwachsenenalter, oft mit rekurrenden Aborten (bei entsprechender Behandlung können 75 - 80 % der Patientinnen gesunde Kinder austragen).

Nicht selten kann ein positiver Lupusantikoagulant-Test auch im Gefolge von Infektionen auftreten (Hepatitis A, Hepatitis C, Mumps, HTLV-I, Röteln, HIV, Epstein-Barr-Virus, Leptospiren, Syphilis, Q-Fieber, Pneumocystis jiroveci, Leishmanien, Malaria, Lepra), hier auch bei pädiatrischen Patienten. Meistens handelt es sich um passagere Befunde, die sich innerhalb einiger Wochen oder Monate zurückbilden. Auch bei Malignomen und lymphoproliferativen Erkrankungen sowie nach Einnahme bestimmter Medikamente (Diphenylhydantoin, Procainamid, Chinidin, Hydralazin, Phentiazin, Phenitoin, Quinida, Interferon, Amoxicillin, Propanolol) kann Lupusantikoagulant vorkommen. Es wurde in diesen Zusammenhängen auch von einem alloimmunem Lupusantikoagulant gesprochen.

Nachweismethoden

Nach den Richtlinien des Scientific Subcommittee on LA/Phospholipid-Dependent Antibodies der International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) wird die Untersuchung mit einer zweimal zentrifugierten Plasmaprobe nach dem unten aufgezeigten Testschema durchgeführt.

Bestätigung bei Lupusantikoagulant

- ▶ Nachweis der Verlängerung der Gerinnungszeit in mindestens zwei Phospholipid-abhängigen abhängigen Gerinnungstests (aPTT, d PT, dRVVT, KCT).
- ▶ Nachweis des Inhibitors auch in Mischungsansätzen mit Normalplasma. Die Anwesenheit des Lupusantikoagulants wird dadurch bestätigt, dass die Gerinnungszeit nach Zugabe von Normalplasma (Substitution mit Gerinnungsfaktoren) verlängert bleibt.
- ▶ Nachweis der Phospholipid-Abhängigkeit der Reaktion. Das Lupusantikoagulant unterscheidet sich von anderen Hemmkörpern der Gerinnung dadurch, dass sich nach Zugabe von Phospholipiden (hohe Phospholipid-Konzentrationen im Reaktionsansatz) die Gerinnungszeit normalisiert.
- ▶ Nachweis anderer Koagulopathien mit spezifischen Assays.



Lupusantikoagulant

Die beiden ersten Untersuchungsschritte dienen dem Nachweis eines Inhibitors der Blutgerinnung, die beiden nachfolgenden sind für die Abgrenzung des Lupusantikoagulant von anderen Inhibitoren (Hemmkörpern) der Gerinnung notwendig.

Methode

Koagulometrisches Untersuchungsverfahren unter Berücksichtigung der Richtlinien der ISTH zur Bestimmung des Lupusantikoagulant:

Bestimmung

Das Lupusantikoagulant ist der häufigste erworbene Hemmkörper-Nachweis der Gerinnung. Seine Abgrenzung von anderen Hemmkörpern (z. B. spontanem Faktor VIII-Inhibitor) ist wegen der diesen eigenen hohen Risiken zu starker Blutungsneigung notwendig. Eine solche Differentialdiagnose kann gelegentlich die Anwendung mehrerer Tests erfordern, da keiner für sich allein die notwendige Spezifität und Sensitivität besitzt (Tabelle 1).

Tabelle 1 Gerinnungsinhibitoren (Synonyma Hemmkörper)

Gerinnungsinhibitoren	
mit in der Regel klinisch manifesten Blutungen	Faktor VIII-Antikörper Faktor II-Antikörper Faktor VII-Antikörper Faktor IX-Antikörper Faktor X-Antikörper Faktor XI-Antikörper Fibrinogen-Antikörper Fibrin-Antikörper Heparin-ähnliche Antikoagulantien
mit oder ohne klinisch manifeste Blutungen	Faktor V-Antikörper
mit in der Regel keinen klinisch manifesten Blutungen	Lupusantikoagulant Faktor XII-Antikörper

Nach den Richtlinien des ISTH (Scientific Subcommittee on LA/Phospholipid-Dependent Antibodies der International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) sollte die Untersuchung auf Lupusantikoagulant mit einer zweimal zentrifugierten Plasmaprobe durchgeführt werden (Exner T. et al., 1991).

Testdesign

▶ Verlängerung der Gerinnungszeit in einem Phospholipid-abhängigen Gerinnungstest:

- ▶ Aktivierte partielle Thromboplastin-Zeit (aPPT)
- ▶ Verdünnte Prothrombin-Zeit
- ▶ Verdünnte Russell Viper Venum-Zeit (dRVVT)
- ▶ Kaolin-Gerinnungs-Zeit (KCT)

▶ Nachweis des Inhibitors auch in Mischungsansätzen mit Normalplasma.

Die Anwesenheit des Lupusantikoagulants wird dadurch bestätigt, dass die Gerinnungszeit nach Zugabe von Normalplasma (Gerinnungsfaktoren) verlängert bleibt.

▶ Nachweis der Phospholipid-Abhängigkeit der Reaktion.

Das Lupusantikoagulant unterscheidet sich von anderen Hemmkörpern der Gerinnung da-



Lupusantikoagulant

durch, dass sich nach Zugabe von Phospholipiden (hohe Phospholipid-Konzentrationen im Reaktionsansatz) die Gerinnungszeit normalisiert.

Als Phospholipide können verwendet werden:

- ▶ Thrombozytenlysate
 - ▶ Mikrovesikel aus Thrombozyten
 - ▶ Phospholipid-Liposomen
 - ▶ Hexagonale Phospholipide
- ▶ Nachweis anderer Koagulopathien durch spezifische Gerinnungsfaktor-Assays.

Die beiden ersten Untersuchungsschritte dienen dem Nachweis eines Inhibitors der Blutgerinnung, die beiden nachfolgenden sind für die Abgrenzung des Lupusantikoagulant von anderen Inhibitoren (Hemmkörpern) der Gerinnung notwendig.

Präanalytik

Zur Herstellung eines thrombozytenfreien Plasmas werden die Citrat-Blutproben zuerst bei 2500 xg 15 Min. zentrifugiert.

Das plättchenarme Plasma wird dann in ein Mikrozentrifugen-Röhrchen (z. B. Eppendorf-tube) überführt und bei 10.000-11.000 xg 5 Min. in einer Mikrozentrifuge zentrifugiert.

Das plättchenfreie Plasma wird bei -20 °C (Lagerzeit bis zu 2 Wochen) bzw. bei -80 °C (Lagerzeit über 2 Wochen) tiefgefroren.

Literatur

Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ: Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. SSC Subcommittee for the Standardization of Lupus Anticoagulants. *Thromb Haemost* (1991); 65(3): 320-322).