

Persönliche PDF-Datei für

Markus Thaler, Marcel Roos, Astrid Petersmann,
Jochen Seissler, Andreas Peter, Rüdiger Landgraf,
Ulrich A. Müller, Dirk Müller-Wieland, Matthias Nauck,
Lutz Heinemann, et al.

Mit den besten Grüßen vom Georg Thieme Verlag

www.thieme.de

Auto-Antikörper-Diagnostik in der Diabetologie – Aktueller Stand der Analytik und klinische Anwendung in Deutschland

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/a-1744-2856>

Nur für den persönlichen Gebrauch bestimmt.
Keine kommerzielle Nutzung, keine Einstellung
in Repositorien.

Verlag und Copyright:

© 2022. Thieme. All rights reserved.
Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany
ISSN 1861-9002

Nachdruck nur
mit Genehmigung
des Verlags

 **Thieme**

Auto-Antikörper-Diagnostik in der Diabetologie – Aktueller Stand der Analytik und klinische Anwendung in Deutschland

Auto-Antibody Diagnostics in Diabetology – Current Status of Analytical Performance and Clinical Utility in Germany

Autoren

Markus Thaler¹, Marcel Roos², Astrid Petersmann³, Jochen Seissler⁴, Andreas Peter^{5,6}, Rüdiger Landgraf⁷, Ulrich A. Müller⁸, Dirk Müller-Wieland⁹, Matthias Nauck¹⁰, Lutz Heinemann¹¹, Erwin Schleicher^{5,6}, Peter Lippa¹

Institute

- 1 Klinikum rechts der Isar der TU München, Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie, München, Germany
- 2 Diabeteszentrum Bogenhausen, München, Germany
- 3 Universitätsinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum Oldenburg AöR, Oldenburg, Germany
- 4 Medizinische Klinik und Poliklinik, Klinikum der Ludwigs-Maximilians-Universität München, München, Germany
- 5 Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie/ Zentrallabor, Universitätsklinikum Tübingen, Tübingen, Germany
- 6 Deutsches Diabetes Zentrum, (DZD), München Neuherberg/Institute for Diabetes Research and Metabolic Diseases of the Helmholtz Zentrum München, Universität Tübingen
- 7 Deutsche Diabetes Stiftung, Düsseldorf, Germany
- 8 Ambulante Versorgung, Praxis für Endokrinologie und Diabetologie, Jena, Germany
- 9 Department für Medizin I, Universitätsklinikum RWTH Aachen, Aachen, Germany
- 10 Universitätsmedizin Greifswald Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Greifswald, Germany
- 11 Science Consulting in Diabetes GmbH, Kaarst, Germany

Schlüsselwörter

Diabetes mellitus, Autoantikörper, Harmonisierung, Richtigkeit, klinische Verwendung

Key words

Diabetes mellitus, autoantibodies, harmonization, accuracy, clinical utility

eingereicht 10.09.2021

akzeptiert 11.01.2022

online publiziert 17.02.2022

Bibliografie

Diabetologie
DOI 10.1055/a-1744-2856
ISSN 1861-9002

© 2022, Thieme. All rights reserved.
Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14,
70469 Stuttgart, Germany

Korrespondenzadresse

Erwin Schleicher
Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie/
Zentrallabor, Universitätsklinikum Tübingen, Germany
Erwin.Schleicher@med.uni-tuebingen.de

ZUSAMMENFASSUNG

Die Messung von spezifischen Autoantikörpern gegen beta-Zellproteine (beta-AAK) hat in den letzten Jahren das diagnostische Repertoire in der Diabetologie erweitert. Das Vorliegen von beta-AAK kann als erstes Stadium in der Entwicklung eines Typ-1-Diabetes mellitus (DM) gewertet werden, ohne dass Symptome bzw. metabolische Veränderungen vorliegen. Da sich diese oft Jahre vor der klinischen Manifestation in Personen mit hohem Erkrankungsrisiko nachweisen lassen, stellen sie wichtige prädiktive und frühdiagnostische Marker dar. Weiterhin kann die Bestimmung von beta-AAK zur Unterscheidung von Patienten mit einem Typ-1-DM auf der einen und Typ-2-DM und Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) auf der anderen Seite indiziert sein. Auch für die Differenzialdiagnostik von Patienten mit Insulinmangel aufgrund einer autoimmunen Betazelldestruktion und von Patienten mit klinisch sehr ähnlichem „severe-insulin-deficient“-Diabetes, die aber beide eine unterschiedliche Prognose haben, ist die Antikörperdiagnostik zielführend. Die Abschätzung des Risikos für die Entwicklung eines Typ-1-DM bei Patienten, die an autoimmunen Endokrinopathien leiden, stellt einen weiteren Einsatzbereich für beta-AAK dar.

Analytisch sind die beta-AAK mit recht unterschiedlichen Methoden messbar; häufig aber weichen die erhaltenen Messergebnisse bei verschiedenen Testmethoden beträchtlich voneinander ab. Es müssen daher eigene Cut-off Werte vom beauftragten Labor definiert werden, um die erhaltenen Ergebnisse klinisch interpretieren zu können. Zur besseren Vergleichbarkeit der Messergebnisse gibt es derzeit interna-

tional abgestimmte Harmonisierungsbestrebungen. Für teilnehmende Laboratorien angebotene Ringversuche für die Bestimmungen der Autoantikörper gegen Insulin (IAA), Insulinoma-Antigen 2 (IA-2), Zink Transporter-8 (ZnT8) und Glutamatdecarboxylase (GAD65) können die analytische Qualität ebenfalls verbessern.

ABSTRACT

The measurement of specific autoantibodies against beta-cell proteins (beta-AAK) has expanded the diagnostic repertoire in diabetology in recent years. The presence of beta-AAK can be interpreted as the first stage of a type 1 diabetes mellitus (DM) without the presence of symptoms or metabolic changes. Since they can often be detected years before clinical manifestation in individuals at high risk of disease, they represent important predictive and early diagnostic markers. Furthermore, the determination of beta-AAK may be indicated for the differentiation of DM type 1 on the one hand and DM type 2 and

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) on the other hand. Antibody diagnostics are also essential to distinguish “autoimmune insulin deficient” from “severe-insulin-deficient” patients, who are clinically very similar but have different prognosis. Estimating the risk of developing DM type 1 in patients suffering from autoimmune endocrinopathies is another area of application for beta-AAK.

Analytically, beta-AAK can be determined by very different methods; however, often the results obtained for different test methods are not comparable. Therefore, cut-off values have to be defined by the respective laboratory in order to be able to interpret the obtained results clinically. The comparability of the results is currently aimed at via internationally coordinated harmonization actions. Ring trials (Interlaboratory comparisons) offered to participating laboratories for the determination of antibodies against insulin (IAA), Insulinoma-Antigen 2 (IA-2), Zink transporter-8 (ZnT8) and glutamate decarboxylase (GAD65) can help to improve the analytical quality.

Einleitung und Hintergrund

T-Lymphozyten spielen eine entscheidende Rolle bei der Autoaggression und Zerstörung der pankreatischen beta-Zelle. Allerdings ist ihre diagnostische Bedeutung begrenzt, da sie vor allem lokal auftreten und im peripheren Blut nur schwer nachweisbar sind. Daher ist das Auftreten von spezifischen Auto-Antikörpern (AAK) gegen beta-Zellproteine (im Folgenden als beta-AAK bezeichnet) ein Surrogat-Parameter, der auf eine Autoaggression hinweist. Die Bestimmung von beta-AAK stellt in der Diabetologie ein Thema dar, das bei vielen Kollegen Fragen aufwirft. Ziel dieses Beitrags ist es, den aktuellen Stand der diagnostischen Möglichkeiten, aus klinischer Sicht, kritisch darzustellen. Im Folgenden werden – nach Betrachtung einiger allgemeiner Aspekte – die verschiedenen beta-AAK in ihrer Antigenspezifität und der daraus resultierenden diagnostischen Wertigkeit vorgestellt. Abschließend werden praxisnahe Empfehlungen gegeben. Diese sind als Expertenmeinung anzusehen, da die Evidenzlage in vielen Aspekten schwach ist.

Autoantikörper gegen beta-Zellproteine (beta-AAK)

Charakterisierung der beta-AAK

Autoantikörper gegen Antigene der pankreatischen beta-Zelle sind ein Kennzeichen des Typ-1-Diabetes mellitus (DM) [1]. In ▶ **Tab. 1** sind die häufigsten in der Routinediagnostik verwendeten Autoantikörper gegen beta-Zellproteine bei Manifestation eines Typ-1-DM aufgelistet. Bei Manifestation eines Typ-1-DM im Jugend- und Erwachsenenalter werden bei mehr als 80 % der Patienten Autoantikörper gegen die 65 kDa Isoform der Glutamatdecarboxylase (GAD65) und gegen das „Insulinoma-Antigen 2“ (IA-2), ein Fragment eines Phospho-Tyrosin-Phosphatase-homologen Proteins, nachgewiesen. Obwohl beide häufig

gemeinsam auftreten, findet man bei Erwachsenen Autoantikörper gegen GAD65 (GADA) etwas häufiger als gegen IA-2 (IA-2A). Ein weiterer Autoantikörper, der häufig zusammen mit den beiden anderen auftritt, ist gegen den Zink Transporter-8 (ZnT8) gerichtet. Diese drei beta-AAKs stellen die wichtigsten Autoantikörper für die Routinediagnostik dar. Im frühkindlichen Alter und im Kindesalter werden bei mehr als 70 % der Patienten bei Diagnose auch Autoantikörper gegen Insulin (IAA) gefunden [2], wobei das Auftreten von diesen IAA mit dem Alter des Patienten abnimmt. Für Patienten im Alter von bis zu 20 Jahren mit neu manifestierten Typ-1-DM kann man orientierend davon ausgehen,

▶ **Tab. 1** In der Routinediagnostik verwendete Autoantikörper (AKK) gegen beta-Zellproteine bei Erstdiagnose eines Diabetes mellitus Typ 1.

Antigen	Bezeichnung des beta-AAK	Prävalenz bei Erstdiagnose***
Glutamatdecarboxylase	GADA	60–85 %
Insulinoma-assoziiertes Antigen-2	IA-2A	50–85 %
Zinktransporter ZnT8	ZnT8A	50–80 %
verschiedene Inselzellantigene	ICA*	variabel
Insulin	IAA**	Erwachsene: <30 %, Kinder <5 Jr.: >90 %

* Aufgrund der Messmethode (indirekte Immunfluoreszenz auf humanem Pankreasgewebe) ist die Beurteilung des Testergebnisses von der Erfahrung des Untersuchers abhängig. Der Test liefert nur semiquantitative Ergebnisse. ** Die Prävalenz der IAA korreliert invers mit dem Alter des Patienten bei Diabetesdiagnose. *** Die Prävalenzangaben sind aufgrund der zahlenmäßig eingeschränkten Studienlage unter Vorbehalt zu sehen.

dass jeder der vorgenannten Autoantikörper (IAA, GADA, IA-2A, ZnT8A) in weitestgehend ähnlich hoher Prävalenz (~ 70–75 %) nachzuweisen ist und jede Kombination auftreten kann. Das Auftreten weiterer beta-AAK gegen andere Antigene spielt für die Routineanalytik derzeit keine Rolle. Die häufig noch eingesetzten zytoplasmatischen Inselzellantikörper (ICA) detektieren Antikörper gegen verschiedene Inselzellantigene (einschließlich GAD65, IA-2 und ZnT8) auf Pankreaskryostatanschnitten mittels indirekter Immunfluoreszenz. Der ICA-Test ist stark von der Qualität des Pankreasgewebes und der Erfahrung des Untersuchers abhängig und somit den neuen quantitativen Autoantikörperassays gegen GAD65, IA-2 und ZnT8A unterlegen.

Während die beta-AAK IA-2A, ZnT8A und IAA relativ spezifisch für einen Typ-1-DM sind, können GADA auch bei seltenen polyendokrinen oder autoimmunen neurologischen Syndromen (z. B. Stiff Man Syndrom, limbische Enzephalitis sowie zerebelläres Syndrom) auftreten. Die Ergebnisse vieler internationaler Studien zeigen, dass sich beta-AAK bereits vor der klinischen Manifestation eines Typ-1-DM nachweisen lassen. Dies hat zu einer neuen Einteilung („staging“) des Typ-1-DM geführt [3]:

- Stadium 1: eine Person, die euglykämisch und ohne Symptome ist, aber positiv für zwei oder mehrere Insel-Autoantikörper ist.
- Stadium 2 eine asymptomatische Person, die positiv für zwei oder mehr Inselzellantikörper ist und es liegt bereits eine Dysglykämie vor.
- Stadium 3: Beginn des klinischen Typ-1-Diabetes mit beta-Zell-Autoimmunität, Hyperglykämie und den klassischen Diabetes Symptomen.

Dies bedeutet, dass das Vorliegen von beta-AAK bereits als das erste Stadium des Typ-1-DM gewertet wird, ohne dass andere Symptome bzw. metabolische Veränderungen vorliegen. Da sich beta-AAK oft Jahre vor der klinischen Manifestation in Personen mit hohem Erkrankungsrisiko nachweisen lassen, sind sie wichtige prädiktive und frühdiagnostische Marker, die sich auch als Screening-Parameter für die Prädiktion eines Typ-1-DM im asymptomatischen, frühkindlichen Alter bewährt haben [4]. Durch eine frühzeitige Identifikation von Betroffenen im a- bzw. präsymptomatischen Stadium mit anschließender Schulung und konsequenter metabolischer Überwachung lassen sich lebensgefährliche Ketoazidosen im Rahmen der Manifestation der Erkrankung vermeiden. Darüber hinaus zeigen immuntherapeutische Studien erste vielversprechende Ergebnisse im Sinne einer verlangsamen Progression zum manifesten Typ-1-DM [5, 6]. Die Einführung eines allgemeinen Screenings aller Kleinkinder auf das Vorhandensein von beta-AAK sollte daher nach Ansicht der Autoren ernsthaft diskutiert werden.

Indikation zur Bestimmung von beta-AAK

Meist lässt sich die Diagnose eines Typ-1-DM aufgrund der Anamnese und der Klinik stellen. In Fällen, bei denen die Klassifizierung des Diabetes unsicher ist, trägt die Bestimmung der beta-AAK zur Sicherung der Diagnose bei (► **Tab. 2**). Dabei muss aber einschränkend erwähnt werden, dass in Abhängigkeit vom Alter ca. 10–15 % der Patienten initial keine der vier genannten beta-AAK aufweisen. Bei Personen mit neu manifestiertem Diabetes melli-

► **Tab. 2** Indikation für die Bestimmung von AKK gegen beta-Zellproteine (beta-AAK) und Indikation der verwendeten Test-Antigene [7].

- Prädiktion eines Typ 1 Diabetes im Säuglings-, Kindes- und Jugendalter (GADA/IA-2A/IAA/ZnT8A; z. Zt. noch keine klare Indikation)
- Sicherung der Diagnose Typ-1-Diabetes mellitus (GAD65/IA-2A/ZnT8A/IAA bis 14 Tage nach Beginn der Insulintherapie)
- Sicherung der Diagnose eines LADA (latent autoimmune diabetes in adults) (GADA/IA-2A/ZnT8A)
- Ausschluss eines autoimmunen Diabetes bei Verdacht auf MODY
- Ausschluss eines autoimmunen Diabetes bei Erkrankungen des exokrinen Pankreas

tus im Alter bis 20 Jahren sind etwas weniger als 10 % für alle 4 beta-AAKs negativ, d. h. bei einem Teil dieser Personen liegt kein Typ-1-DM vor, sondern eine andere Form des Diabetes. Diese Patienten bilden eventuell Antikörper auf noch nicht identifizierte oder bereits bekannte „minor“ beta-Zellantigene oder hatten während der frühen Phase der Diabetesentstehung beta-AAK, die bei Diagnose bereits wieder negativ geworden sind.

Patienten höheren Alters, die einen DM entwickeln und beta-AAK-positiv sind, werden als LADA (latent autoimmune diabetes in adults) klassifiziert, eine Diabetesform, die dem autoimmunen Typ-1-DM zugeordnet wird. Bei LADA-Patienten sind meist die GADA positiv. Viele Patienten mit autoimmunen Diabetestypen sind meist bereits bei Diagnosestellung insulinpflichtig oder werden im Falle eines LADA relativ rasch nach Manifestation insulinpflichtig. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die beta-AAK die derzeit besten differenzialdiagnostischen Marker für einen Typ-1-DM bzw. einen LADA darstellen. Außerdem kann mit Hilfe der beta-AAK-Analytik die Diagnose von nichtautoimmunbasier-ten Diabetestypen unterstützt werden (► **Tab. 2**).

Bestimmung der beta-AAK

Prinzipielle Problematik bei der Messung von beta-AAK

Anders als bei den klassischen Kenngrößen in der Diabetologie, wie z. B. Glucose, HbA1c, C-Peptid und Insulin, die alle molekular genau definiert sind, sind beta-AAK in vieler Hinsicht heterogen. Diese biologische Variabilität macht eine molekulare Definition und deswegen auch eine Standardisierung unmöglich [8]. Eine Vergleichbarkeit der Messwerte muss über eine Harmonisierung angestrebt werden.

Die biologische Variabilität beruht auf verschiedenen Faktoren:

- Die beta-AAK werden von den jeweiligen Menschen individuell produziert und unterscheiden sich damit in ihrer Aminosäuresequenz und somit in der Bindungsregion des Autoantigens.
- Die beta-AAK sind polyklonal, das heißt sie unterscheiden sich auch molekular innerhalb einer einzelnen Person (auch in einem Individuum weisen Autoantikörper eine unterschiedliche Affinität für das Antigen auf).
- Die von beta-AAK erkannten Epitope sind meist Konformations-epitope. Das heißt, dass nicht nur eine bestimmte Aminosäure-

sequenz, sondern auch sekundäre bzw. tertiäre Proteinstrukturen erkannt werden. Daher ist ein Test, der nur auf einem Epitop beruht, nicht ausreichend. Mit falsch negativen Ergebnissen muss gerechnet werden.

- Die beta-AAK variieren im Zeitverlauf. Das bedeutet, dass sich die AAK eines Patienten im Verlaufe der Zeit bezüglich der Immunglobulin-Isotypen, Subtypen (IgG1–4) und der Zielepitope verändern können.

Bei der Bestimmung der variablen beta-AAK ist damit – im Gegensatz zu vielen konventionellen Immunoassays – die Messgröße nicht genau molekular definiert. Beta-AAK sind also nicht selbst, sondern über die Erkennung ihres Zielantigens und über ihren Isotyp definiert und werden auch so bestimmt.

Analytische Methoden

Da bislang keine verbindliche Messmethode festgelegt wurde, gibt es sehr verschiedene Formate von Testmethoden, die u. a. auf Radiobindungs-, ELISA-, Luziferase- und Elektrochemilumineszenz-Technologie basieren und verschiedene Standards für die Kalibrierung ihrer Testsysteme verwenden. Entsprechend der Nicht-Vergleichbarkeit der erhaltenen Ergebnisse müssen für jedes Testformat eigene Cut-off-Werte definiert werden, um die erhaltenen Messergebnisse zu interpretieren. Assay-Formate mit Festphasengebundenen Antigenen (z. B. im ELISA) erreichen beim Nachweis von beta-AKK keine ausreichende Sensitivität und Spezifität. Überlegen sind Methoden, bei denen die Immunkomplexbildung komplett (oder zumindest teilweise) in flüssiger Phase stattfindet. Diese Formate bilden die Grundlage aller gegenwärtig für die Routinediagnostik etablierten Testsysteme. Hierzu zählen u. a. Radiobindungs-, Elektrochemilumineszenz-Assays und Bridge-ELISAs [9]. Die Präanalytik der Messung von beta-AKK ist relativ unproblematisch. Antikörper im Serum bzw. Plasma (nicht Vollblut!) sind vergleichsweise stabil und können somit auch postalisch versandt werden. Weiterhin sind keine schnellen Änderungen in der Konzentration der beta-AAK zu erwarten, da die biologische Plasmahalbwertszeit von Immunglobulinen 2–3 Wochen beträgt. Bei nicht plausiblen Ergebnissen, insbesondere wenn nur IAA positiv sind, sollte der Test jedoch ggf. mit einer neuen Probe wiederholt werden.

Vergleichbarkeit der Testsysteme – Harmonisierung

Laboratoriumsmedizinische Untersuchungen stellen einen wichtigen Baustein für Diagnosestellung, prognostische Einschätzungen und Therapieüberwachung dar. Neben der eigenen Erfahrung bieten dem behandelnden Arzt dabei nationale und internationale Leitlinien mit Angabe definierter Referenzintervalle bzw. Cut-offs eine Orientierung bei der klinischen Nutzung von beta-AKK-Messergebnissen. Die in diesen Quellen gemachten fixen Angaben können allerdings nur dann zum Nutzen der Patienten eingesetzt werden, wenn die mit verschiedenen Testsystemen erzielten Ergebnisse nicht zu sehr voneinander abweichen. Daher ist eine möglichst gute Vergleichbarkeit anzustreben [10].

Harmonisierungsprozesse dienen dazu, die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Testsysteme zu verbessern. Im Idealfall erreicht man dies durch eine sog. Standardisierung bei der mittels

eines definierten Referenzstandards und einer anerkannten Referenzmethode der „wahre“ Wert einer Messgröße bestimmt werden kann. Wie aus den obigen Ausführungen zur Problematik bei der Messung von AAK hervorgeht, kann für beta-AAK schon aus biologischen Gründen weder ein definierter Referenzstandard vorhanden sein, noch eine allgemein anerkannte Referenzmethode etabliert werden. Für Testsysteme zur Bestimmung von beta-AAK besteht daher lediglich die Möglichkeit einer Harmonisierung [8].

Den ersten Schritt hin zur Harmonisierung von beta-AAK-Assays stellte die Erstellung eines WHO-Referenzstandards für Inselzellantikörper (NIBSC-Code 97/550) dar [11]. Basierend auf einer einzelnen Serumpräparation wurde dem Referenzstandard eine GADA- und IA-2A-Konzentration von je 250 U/ml zugeordnet. In nachfolgenden vom „National Institute for Diabetes and Digestive and Kidney Diseases“ initiierten Bemühungen wurden für die GADA- und IA-2A-Bestimmung u. a. Testprotokolle harmonisiert und größere Volumina an Arbeitskalibratoren aus Mischungen mehrerer Seren hergestellt und gegen den WHO-Referenzstandard kalibriert. Die Vergleichbarkeit der Testsysteme konnte hierdurch deutlich verbessert werden [12].

Zentral für die Harmonisierung sind weiterhin die Aktivitäten des „Islet Autoantibody Standardization Program“ (IASP) (früher: „Diabetes Antibody Standardization Program“ [13]), die darauf abzielen, diagnostische Aussagekraft und Übereinstimmung von beta-AAK-Assays zu verbessern. Insbesondere organisiert das IASP alle 18 Monate internationale Vergleichsstudien, bei denen mehr als 100 Serumproben von Patienten mit Typ-1-DM und von gesunden Kontrollen verblindet an die teilnehmenden Laboratorien versandt werden [14].

Mit Hilfe o. g. Bemühungen konnte die Bestimmung von Autoantikörpern gegen GAD65- und IA-2A weitgehend harmonisiert werden. Allerdings zeigt sich bislang noch keine Verbesserung der Bestehensquote der GADA in Ringversuchen von 2014 bis 2020 [15]. Die Ergebnisse des internationalen IASP-Workshops im Jahr 2018 zeigen ebenfalls eine heterogene Performance verschiedener Testformate zum Nachweis von GADA [14]. Diese Testproblematik wird ausführlich in der Literatur diskutiert [16]. In diesem Zusammenhang sei kritisch angemerkt, dass bislang keine Referenzstandards für IAA und ZnT8A verfügbar sind.

Methoden auf dem Markt in Deutschland/Qualitätskontrolle

Da Eigenentwicklungen insbesondere seit Inkrafttreten der EU-Verordnung über *in-vitro*-Diagnostika (IVDR 2017/746) im April 2017 für medizinische Laboratorien mit unverhältnismäßig hohem Aufwand verbunden sind, erfolgt die Bestimmung der beta-AAK typischerweise mit kommerziell erhältlichen Testsystemen. Assays von mehreren verschiedenen Herstellern sind derzeit in Deutschland verfügbar und zugelassen. Dabei dominieren aktuell drei Diagnostika-Hersteller den Markt für beta-AAK in Deutschland: Euroimmun, Lübeck; Medipan, Blankenfelde-Mahlow; Orgentec, Mainz.

Typischerweise erfolgt die Bestimmung der IAA-, IA-2- und GAD65-AAK entweder mittels RIA oder ELISA. Für ZnT8A sind aktuell nur ELISA-Formate erhältlich. Die ELISAs sind oft so gestaltet, dass sie nicht nur manuell, sondern auch in entsprechend gestalte-

ten ELISA- Prozessoren bearbeitet werden können. Einzelne Hersteller bieten zu Screening-Zwecken zudem ELISAs mit einer Mischung mehrerer beta-AAK-Antigene an (z. B. IA-2/GAD65). Bei positiven Resultaten müssen dann, falls gewünscht, in einem nachgeschalteten spezifischen ELISA die zugehörigen AAK identifiziert werden.

Für die drei oben genannten Hersteller ergibt sich entsprechend der Informationen in den Gebrauchsanweisungen bzgl. Sensitivitäten und Spezifitäten folgendes Bild: Die Spezifitäten sind bei allen Assays mit > 94 % als sehr gut zu bewerten. Dagegen variieren die Sensitivitätswerte je nach Anbieter und Assayformat erheblich: Bei Autoantikörpern gegen Insulin (IAA) variieren sie zwischen 46 und 77 %, für IA-2A zwischen 68 bis 88 %, für ZnT8A zwischen 68 und 72 % und für GADA zwischen 82 und 94 %. Je nach Hersteller und Analyt wurden vorgenannte Leistungsmerkmale teilweise im Rahmen des Islet Autoantibody Standardization Program ermittelt. Zum Teil stammen die Daten jedoch auch aus Messungen nicht näher charakterisierter Seren von Patienten mit Typ-1-DM und gesunden Kontrollen (meist Blutspendern). Es ist anzunehmen, dass die unterschiedlichen Kohorten an Typ-1-DM-Patienten zu den beobachteten Sensitivitätsunterschieden beitragen. Cut-off-unabhängige Leistungsmerkmale von Assays werden von den Herstellern bedauerlicherweise nicht kommuniziert. Der Vergleich der verfügbaren Assays und die Auswahl geeigneter Testsysteme stellt für das diagnostische Labor damit eine anspruchsvollen und verantwortungsvollen Aufgabe dar. Zwei der drei Assay-Hersteller haben bis 2015 regelmäßig am Islet Autoantibody Standardization Program teilgenommen. Jedoch behindern derzeit patentrechtliche Probleme die weitere Entwicklung. Aufgrund der wachsenden Bedeutung der beta-AAK-Diagnostik ist mittelfristig mit methodischen Innovationen auf dem Markt zu rechnen.

Wie für jede andere medizinische Laboruntersuchung hat für die Bestimmung der beta-AAK ebenfalls eine Qualitätskontrolle entsprechend der aktuell gültigen Fassung der „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ zu erfolgen [17]. Im Rahmen der sog. internen Qualitätskontrolle werden hierzu Kontrollproben mit Zielwerten in mindestens zwei Konzentrationsbereichen vermessen. Dies erfolgt mit dem Start des Messverfahrens, in regelmäßigen Abständen während des Messtages, sowie bei Eingriffen in das Messsystem. Bei den verwendeten Kontrollen handelt es sich bislang ausschließlich um die von den Herstellern der Testsysteme mitgelieferten Kit-Kontrollen. Unabhängige Kontrollmaterialien zur weiteren Qualitätsverbesserung sind für beta-AAK derzeit nicht verfügbar. Darüber hinaus ist zusätzlich die regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen als externe Qualitätskontrolle zwar nicht zwingend vorgeschrieben, jedoch gute Laborpraxis. Dabei werden von Ringversuchsorganisationen Proben an die teilnehmenden Labors verschickt und die ermittelten Ergebnisse mit den Zielwerten verglichen. Im erfolgreichen Fall (der eingesandte Wert liegt bezüglich des robusten Mittelwertes des Gesamtkollektivs innerhalb von definierten Bewertungsgrenzen) erhält der Teilnehmer ein entsprechendes Zertifikat. Ringversuche für die beta-Zellautoantikörper GADA, IAA, ZnT8A, ICA und IA-2A werden aktuell nur von INSTAND E.V. (Düsseldorf) angeboten. Im Rahmen dieser Ringversuche werden einmal pro Jahr zwei Proben an die teilnehmenden Labore versandt.

Anwendung der beta-AAK-Bestimmungen in der Praxis

Gegenwärtig ergeben sich die folgenden Einsatzbereiche für die Bestimmung von beta-AAK in der diabetologischen Praxis:

Abgrenzung der einzelnen Diabetesformen

Die Bestimmung von beta-AAK kann zur Unterscheidung von Typ-1-DM auf der einen und Typ-2-DM und MODY auf der anderen Seite indiziert sein. Dies ist insbesondere dann relevant, wenn allein durch Anamnese und Klinik keine eindeutige Abgrenzung möglich ist. Eine typische Konstellation wären hier Patienten > 30 Jahre ohne Ketose-neigung und ohne unmittelbaren Insulinbedarf zum Ausschluss eines LADA. Aufgrund des altersspezifisch unterschiedlichen Auftretens der verschiedenen beta-AAK sollte man im Rahmen der Differenzialdiagnose bei v. a. Typ-1-DM bis zum 20. Lebensjahr prinzipiell alle vier beta-AAK (IAA, GADA, IA-2A, ZnT8A) bestimmen. Nach dem 20. Lebensjahr kann es sinnvoll sein, sich zunächst auf GADA und IA-2A zu beschränken. Bei positivem Nachweis eines oder mehrerer beta-AAK ist die autoimmune Genese des Diabetes gesichert. Im Sinne einer rationellen Strategie können daher die einzelnen beta-AAK auch sequenziell bestimmt und die Diagnostik beim ersten positiven Antikörpernachweis beendet werden. Es ist zu beachten, dass die Bestimmung von IAA in diesem Zusammenhang nur vor Einleitung einer Insulintherapie von Aussagekraft ist, da durch die Insulininjektion häufig Antikörper gegen Insulin in niedrigen Titern induziert werden, die nicht von den IAA differenziert werden können [18].

Eine besondere Problematik liegt in der Diagnostik eines LADA vor. In der kürzlich erschienenen Übersicht von Jones et al. [19] plädieren die Autoren, dass bei dem klinischen Verdacht eines LADA plus positiver GADA nur GADA mit höherem Titer die Diagnose LADA rechtfertigen, denn häufig werden GADA-Assays mit niedriger Spezifität verwendet und damit „Diabetes-irrelevante Autoantikörper“ gemessen. Die Definition von Cutoffs bei der Interpretation des GADA-Assays verhindert eine Überdiagnostik eines LADA. Alternativ lässt sich aus methodischer Sicht möglicherweise die Spezifität von GADA-Assays für die Diagnose eines LADA durch Verwendung von N-terminal verkürztem GAD65 Antigen verbessern [20].

Eine neuartige Typisierung des adult-onset Diabetes definiert zwei verschiedene Insulinmangelformen: den autoimmunen und den severe-insulin-deficient Patienten [21]. Aufgrund der recht ähnlichen Charakteristik, aber unterschiedlichen Prognose, ist hier die Antikörperdiagnostik insbesondere mit dem GADA evtl. in Kombination mit den IA-2A hilfreich. Diese Diagnostik ist sinnvoll, obwohl eher die klinische Charakteristik des LADA-Patienten selbst wegweisend ist (schlanker Körperbau, jüngeres Alter, autoimmune Begleiterkrankungen, schnellere Progression der Glykämie, Diskrepanz Akuthyperglykämie/HbA1c). Es gilt darauf hinzuweisen, dass negative beta-AAK-Tests einen klinisch relevanten Insulinmangel nicht ausschließen [19]. Hier ist die Bestimmung des Nüchtern-Serum oder Plasma C-Peptids und gegebenenfalls des C-Peptids im Glucagontest zur weiteren Abklärung sinnvoll. Das C-Peptid gibt im klinischen Alltag einen (aktuellen) Stand der Beta-Zellkapazität und trägt unmittelbar zur Therapieentscheidung bzw. -Intensivierung (z. B. Basalinsulin, prandiales Insulin 1–3x/Tag etc.) bei [22].

► **Tab. 3** Klinische Anwendungen der beta-AAK.

Beta-AAK	Typ-1-DM		LADA	MODY	Spezifität
	Prädiktion	Erst-diagnose			
GADA	geeignet	geeignet	geeignet	negativ	positiv bei polyendokrinen oder autoimmunen, neurologischen Syndromen
IA-2A	geeignet	geeignet	geeignet	negativ	
ZnT8A	geeignet	geeignet	geeignet	negativ	
IAA	geeignet	geeignet < 10 Jahre, ungeeignet > 10 Jahre	wenig relevant	negativ	

Risikoabschätzung für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 1

Die Abschätzung des Risikos für die Entwicklung eines Typ-1-DM stellt den zweiten großen Einsatzbereich für beta-AAK dar. In erster Linie ist dies von Bedeutung für Patienten, die an anderen autoimmunen Endokrinopathien leiden, von denen bekannt ist, dass sie mit dem Typ-1-DM assoziiert sind. Hierzu zählen u. a. die Zöliakie, die Hashimoto-Thyreoiditis, der Morbus Basedow und in selteneren Fällen auch der Morbus Addison, die Vitiligo, die Alopecia areata und die perniziöse Anämie. Darüber hinaus kann die Bestimmung von beta-AAK bei Kindern von Verwandten ersten Grades von Patienten mit Typ-1-DM sinnvoll sein. Es muss darauf hingewiesen werden, dass es sich dabei zum jetzigen Zeitpunkt noch um keine klare Indikation handelt: Bei positiven Testergebnissen können aktuell präventive Interventionen nur im Rahmen von klinischen Studien angeboten werden. Jedoch lassen sich durch Schulung der Eltern und konsequentes metabolisches Monitoring Ketoazidosen bei Manifestation der Erkrankung vermeiden. Vor der Testung ist daher insbesondere auf eine ausführliche Aufklärung der Eltern zu Bedeutung und Konsequenz möglicherweise positiver Resultate zu achten. Der Vollständigkeit halber sei ferner als seltene Indikation die geplante Lebendspende von Niere oder Pankreasgewebe genannt, im Rahmen derer das Screening von Verwandten ersten Grades von Patienten mit Typ-1-DM auf das Vorliegen von beta-AAK sinnvoll sein kann. Da mit der Anzahl der positiven Autoantikörper auch das Risiko für die Entwicklung eines Typ-1-DM steigt, ist ganz generell für die Risikoabschätzung eines Typ-1-DM die gleichzeitige Bestimmung aller vier beta-AAK zu empfehlen [18]. Die klinischen Anwendungen der beta-AAK sind in ► **Tab. 3** zusammengefasst.

Die oben erwähnten Autoantikörper ermöglichen bei der LADA-Diabetesform eine Unterscheidung zum Typ-2-DM und gelten als Vorhersagekriterium für eine Insulinpflichtigkeit [19].

Diabetes mellitus bei Therapie mit Immuncheckpoint-Inhibitoren (ICPI)

Die vielfältigen Nebenwirkungen von ICPI können auch das endokrine System betreffen. Dabei ist die Prävalenz eines autoimmunen DM < 2 %. Die Erkrankung verläuft jedoch häufig fulminant

mit einer Ketoazidose. Im Verlauf finden sich oft (aber nicht immer!) GADA und IA2-A, sowie ein ausgeprägter Insulinmangel. Wie bei der Entstehung des autoimmunen Typ-1-DM findet man die rasch entwickelnden klassischen Zeichen wie Hyperglykämie mit Polyurie, Polydipsie, Gewichtsverlust und Übelkeit. Der Zeitpunkt des Auftretens eines ICPI-assoziierten DM ist ausgesprochen variabel und kann unmittelbar nach Beginn der ICPI-Therapie oder erst nach vielen Monaten liegen. Neben einem regelmäßigen Monitoring der Glukosekonzentrationen kann die beta-AAK-Diagnostik durchaus sinnvoll sein [23].

Schlussfolgerungen/Empfehlungen (für den Diabetologen/Internisten/Hausarzt)

Die Bestimmung von beta-AAK kann bei der Differenzialdiagnose des Typ-1-DM und LADA von Typ-2-DM und seltenen Diabetesformen sehr hilfreich sein. Weiterhin sind die beta-AAK die besten verfügbaren Labormessgrößen für die Prädiktion eines Typ-1-DM sowie die einzigen Marker für die Diagnose eines präsymptomatischen Frühstadiums der Erkrankung insbesondere im Kindesalter und bei Verwandten von Patienten mit Diabetes oder anderen autoimmunen Endokrinopathien.

Da die beta-AAK in ihren Eigenschaften ausgesprochen heterogen sind, muss eine weitere Harmonisierung der Messmethoden angestrebt werden, um eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Testmethoden zu gewährleisten. In der Praxis sollten zukünftig nur noch unabhängig evaluierte AAK-Assays mit hoher Sensitivität und Spezifität eingesetzt werden. Für den optimalen Einsatz und die richtige Interpretation der Ergebnisse sind Fortbildungen für die Anwender angeraten.

Interessenkonflikt

Die Autorinnen/Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- [1] Ziegler AG, Nepom GT. Prediction and pathogenesis in type 1 diabetes. *Immunity* 2010; 32: 468–478. doi:10.1016/j.immuni.2010.03.018

- [2] Ziegler AG, Bonifacio E, Group BBS. Age-related islet autoantibody incidence in offspring of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2012; 55: 1937–1943
- [3] Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA et al. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2015; 38: 1964–1974. doi:10.2337/dc15-1419
- [4] Ziegler AG, Kick K, Bonifacio E et al. Yield of a public health screening of children for islet antibodies in Bavaria, Germany. *JAMA* 2020; 323: 339–351. doi:10.1001/jama.2019.21565
- [5] Herold KC, Bundy BN, Long SA et al. An anti-CD3 antibody, Teplizumab, in relatives at risk for type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2019; 381: 603–613. doi:10.1056/NEJMoa1902226
- [6] Warshauer JT, Bluestone JA, Anderson MS. New frontiers in the treatment of type 1 diabetes. *Cell Metab* 2020; 31: 46–61. doi:10.1016/j.cmet.2019.11.017
- [7] Nauck M, Gerdes C, Petersmann A et al. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus: Update 2020. *Diabetologe* 2020; 15: 9–17
- [8] Hörber S, Achenbach P, Schleicher E et al. Harmonization of immunoassays for biomarkers in diabetes mellitus. *Biotechnol Adv* 2020; 39: 107359. doi:10.1016/j.biotechadv.2019.02.015
- [9] Lampasona V, Liberati D. Islet autoantibodies. *Curr Diab Rep* 2016; 16: 53. doi:10.1007/s11892-016-0738-2
- [10] Miller WG, Tate JR, Barth JH et al. Harmonization: the sample, the measurement, and the report. *Ann Lab Med* 2014; 34: 187–197. doi:10.3343/alm.2014.34.3.187
- [11] Mire-Sluis AR, Gaines Das R, Lernmark A. The World Health Organization international collaborative study for islet cell antibodies. *Diabetologia* 2000; 43: 1282–1292. doi:10.1007/s001250051524
- [12] Bonifacio E, Yu L, Williams AK et al. Harmonization of glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2 autoantibody assays for national institute of diabetes and digestive and kidney diseases consortia. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95: 3360–3367. doi:10.1210/jc.2010-0293
- [13] Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller PW. Diabetes antibody standardization program: first assay proficiency evaluation. *Diabetes* 2003; 52: 1128–1136. doi:10.2337/diabetes.52.5.1128
- [14] Lampasona V, Pittman DL, Williams AJ et al. Islet autoantibody standardization program 2018 workshop: interlaboratory comparison of glutamic acid decarboxylase autoantibody assay performance. *Clin Chem* 2019; 65: 1141–1152. doi:10.1373/clinchem.2019.304196
- [15] Hörber S, Kaiser P, Achenbach P et al. Neue Klassifikation des Diabetes mellitus – Anforderungen an Labormessgrößen. *Diabetol Stoffwech* 2021; 16: 63–69
- [16] Bonifacio E, Achenbach P. Birth and coming of age islet autoantibodies. *Clin Exp Immunol* 2019; 198: 294–305. doi:10.1111/cei.13360
- [17] [Anonym]. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen – Rili-BÄK. *Dtsch Arztebl* 2019; 116. doi:10.3238/arztebl.2019.rili_baek_QS_Labor20192312
- [18] Conrad K, Schößler W, Hiepe F et al. Autoantibodies in organ specific autoimmune diseases. A diagnostic reference, 2nd ed. Lengerich: Pabst Science Publishers; 2017
- [19] Jones AG, McDonald TJ, Shields BM et al. Latent autoimmune diabetes of adults (LADA) is likely to represent a mixed population of autoimmune (type 1) and nonautoimmune (type 2) diabetes. *Diabetes Care* 2021; 44: 1243–1251. doi:10.2337/dc20-2834
- [20] Achenbach P, Hawa MI, Krause S et al. Autoantibodies to N-terminally truncated GAD improve clinical phenotyping of individuals with adult-onset diabetes: action LADA 12. *Diabetologia* 2018; 61: 1644–1649. doi:10.1007/s00125-018-4605-3
- [21] Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2018; 6: 361–369. doi:10.1016/S2213-8587(18)30051-2
- [22] Buzzetti R, Tuomi T, Mauricio D et al. Management of latent autoimmune diabetes in adults: a consensus statement from an international expert panel. *Diabetes* 2020; 69: 2037–2047. doi:10.2337/dbi20-0017
- [23] Mai K, Fassnacht M, Führer-Sakel D et al. Diagnostik und Management endokriner Nebenwirkungen von Immuncheckpoint-Inhibitoren. *Dtsch Arztebl Int* 2021; 118: 389–396