

VASKULÄRE KOMPLIKATIONEN DURCH AUTOANTIKÖRPER GEGEN G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN BEI DEN VOLKSKRANKHEITEN DEMENZ UND TYP-2-DIABETES SOWIE DER BÜRGERSCHEN KRANKHEIT

P. Karczewski, P. Hempel, M. Bimmler

*E.R.D.E. -AAK-Diagnostik GmbH
Biomedizinischer Forschungscampus Berlin-Buch
Berlin, Germany*

EINLEITUNG

Eine spezielle Gruppe von Autoantikörpern gewann in den letzten Jahren in Forschung und Klinik zunehmend an Bedeutung aufgrund ihrer besonderen Wirkungsweise und ihres Vorkommens bei schwerwiegenden Erkrankungen. Diese Autoantikörper sind gegen bestimmte Rezeptoren in der Zelloberfläche gerichtet, den G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR). Der zahlreichsten und wichtigsten Familie von Membranproteinen, die extrazelluläre Signale in das Zellinnere übertragen. Schwerpunkt der vorliegenden Übersicht sind die bisherigen Arbeiten unseres Labors auf diesem Gebiet. Die Aktivitäten unseres Labors umfassen die Diagnostik eines Spektrums von krankheitsassoziierten agonistischen Autoantikörpern sowie Untersuchungen zu zellulären Wirkungsmechanismen dieser Antikörper.

G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN (GPCR)

Die Superfamilie der GPCR umfasst mehrere hundert Rezeptoren. GPCR kommen in allen Zelltypen menschlicher und tierischer Gewebe vor. Sie vermitteln die Wirkung einer Vielzahl von Signalstoffen des Organismus wie Hormone, Neurotransmitter und sogar Photonen. Von vielen GPCR sind die natürlichen Liganden bisher nicht bekannt. GPCR sind an der Regulation fast aller Körperfunktionen beteiligt. Sie kontrollieren viele physiologische Prozesse und spielen bei pathologischen Zuständen eine oft zentrale Rolle. Sie sind deshalb die wichtigste Zielstruktur für pharmakologische Therapieansätze. Alle GPCR bestehen aus einer unverzweigten Kette von Aminosäuren, die die Oberflächenmembran der Zelle siebenmal durchdringt (1). Auf der Zelloberfläche befindliche Domänen der Rezeptoren sind das N-terminale Ende sowie die drei extrazellulären Schleifen. Letztere bilden

durch Disulfidbrücken und Glykosylierungen hydrophobe Taschen, die als die Bindungsstellen für die physiologischen Agonisten identifiziert wurden. Die physiologische Aktivierung des GPCR erfolgt durch Bindung des jeweiligen Agonisten an die extrazelluläre Bindungsstelle und die nachfolgende intrazelluläre Verknüpfung zweier Rezeptormoleküle (Dimerisierung). Der intrazelluläre Teil des Rezeptormoleküls interagiert typspezifisch mit verschiedenen G-Proteinen, einer Klasse regulatorischer heterotrimerer Proteine, die rezeptorspezifisch eine Kaskade intrazellulärer Reaktionen einleiten. Neben der Spezifität der Agonistenbindungsstelle des GPCR-Moleküls für den physiologische Liganden, bestimmt die Interaktion mit bestimmten G-Proteinen die Art und Weise, wie die Zielzelle auf das Signal der Rezeptoraktivierung reagiert. Je nach Art der vom Rezeptor rekrutierten G-Proteine werden zelluläre Signalwege aktiviert oder gehemmt.

Eine Gruppe von GPCR, die die Aktivität des sympathischen Nervensystems regulieren, sind die adrenergen Rezeptoren (Adrenozeptoren). Hierzu zählen die α -adrenergen und β -adrenergen GPCR mit ihren Vertretern α_1 , α_2 und β_1 , β_2 , β_3 . Ihre natürlichen Liganden sind die im Nebennierenmark produzierten Neurotransmitter/Hormone Adrenalin und Noradrenalin. Neben anderen physiologischen Prozessen regulieren Adrenozeptoren die Herz- und Gefäßmuskulatur und sind als Zielstrukturen bei Erkrankungen des Myokards und Gefäßsystems wie Herzinsuffizienz und Bluthochdruck von immenser therapeutischer Bedeutung.

AGONISTISCHE AUTOANTIKÖRPER GEGEN G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN

Autoimmunerkrankungen sind relativ häufig. Sie unterscheiden sich nach der Art der betroffenen Gewebe und Organe sowie der Ausprägung der Symptome. Bestimmte Autoimmunerkrankungen sind gekennzeichnet durch das Auftreten von Antikörpern (agonistische Autoantikörper), die an GPCR binden und diese aktivieren. Der klassische Vertreter einer solchen Erkrankung ist die Gravesche Krankheit (Hyper-

thyroidismus), bei der erstmals GPCR aktivierende Autoantikörper als Krankheitsursache nachgewiesen wurden (2). Hier treten agonistische Autoantikörper auf, die den Thyroid-stimulierenden Hormonrezeptor (TSHR) langanhaltend aktivieren und so Symptome der Erkrankung auslösen. In den letzten zwei Jahrzehnten wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen solche Autoimmungeschehen gegen GPCR bei einer wachsenden Zahl von unterschiedlichsten Pathologien beschrieben. Hierzu zählen schwerwiegende Erkrankungen wie die dilatative Kardiomyopathie sowie Volkskrankheiten wie Hypertonie, Typ-2-Diabetes und Demenz (Tab. 1). Ein Schwerpunkt unserer Arbeiten ist das Autoimmungeschehen zum α_1 -adrenergen Rezeptor (α_1 -AR). Dieser GPCR ist an der Regulation der kontraktilen Myokardfunktion und des Glukosestoffwechsels beteiligt und ist für die Funktion der Gefäßmuskulatur von zentraler Bedeutung. Die Antikörperdiagnostik von Patientenserum zeigte ein auffälliges Auftreten von agonistischen Autoantikörpern gegen den α_1 -AR bei Erkrankungen mit prominenter Gefäßbeteiligung. Das legt den Schluss nahe, dass eine durch Autoantikörper verursachte unphysiologische Aktivität des α_1 -AR ein Pathomechanismus für vaskuläre Schäden sein kann, die bei schweren Erkrankungen wie den Volkskrankheiten Demenz und Typ-2-Diabetes eine wesentliche, wenn nicht sogar eine kausale Rolle spielen. Diese Hypothese war Anlass für unser Labor, Wirkungsmechanismen dieser Autoantikörper gegen den α_1 -AR und die pathologische Signifikanz dieses Immungeschehens für die Entstehung von Gefäßschäden näher zu untersuchen.

ZELLULÄRE WIRKUNGSWEISE AGONISTISCHER AUTOANTIKÖRPER GEGEN G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN

Die Interaktion eines Antikörpers mit einem GPCR setzt dessen Bindung an eine auf der Zelloberfläche zugängliche Domäne des Rezeptors voraus. Alle bisher in Patientenserum identifizierten agonistischen Autoantikörper binden im Gegensatz zu den physiologischen Agonisten an der ersten oder zweiten extrazellulären Schleife des GPCR. In Untersuchungen an Präparationen von α_1 -AR-spezifischen Autoantikörpern aus Patientenserum verschiedener Krankheitsbilder konnten wir mit unterschiedlichen Techniken Werte für die halbmaximale Bindung (EC50-Wert) an Peptidsequenzen der ersten und zweiten extrazellulären Rezeptorschleife im Konzentrationsbereich von 50 nM finden (3, 4). Die Bindung des Antikörpers bewirkt durch die extrazelluläre Verknüpfung zweier Rezeptormoleküle eine funktionelle Dimerisierung, die zu einem Agonisten-ähn-

lichen Effekt führt (5). Der Antikörper aktiviert den GPCR zwar nicht im Ausmaß wie der physiologische Agonist, wirkt aber durch die stabile Bindung an den Rezeptor und das Ausschalten zellulärer Schutzmechanismen (keine Rezeptordesensibilisierung) nahezu permanent auf die Zelle. Die Aktivierung des GPCR durch agonistische Autoantikörper löst in der Zelle receptorspezifische Reaktionen aus. Diese können, aber müssen nicht, identisch mit denen sein, die durch die physiologischen Agonisten aktiviert werden. Calciumionen sind die universellsten intrazellulären Boten und an den Signalwegen der GPCR beteiligt. Für eine Reihe von krankheitsassoziierten Autoantikörpern gegen unterschiedliche GPCR konnte nachgewiesen werden, dass sie ebenfalls das zelluläre Calcium erhöhen (6–8). Der α_1 -AR gehört zu den GPCR, die effektiv zum intrazellulären Calcium gekoppelt sind (9). Wir konnten zeigen, dass α_1 -AR-spezifische Autoantikörper aus Patientenserum, ebenso wie im Versuchstier hergestellte Antikörper, gegen bekannte Epitope des Rezeptors die Mobilisierung des intrazellulären Calciums bewirkten (3, 10). Diese Antikörper aktivierten so wichtige Signalmoleküle wie Proteinkinase C, induzierten die Phosphorylierung und somit eine Funktionsänderung von Regulatorproteinen der kardialen Calciumhomöostase und beeinflussten die Genexpression des L-Typ Calciumkanals. Die unphysiologische und langanhaltende Aktivierung von zellulären Prozessen, losgelöst von den aktuellen physiologischen Anforderungen an das Organ, wie sie durch agonistische Autoantikörper verursacht wird, führt zur Ausbildung von pathologischen Zuständen wie der Calciumüberladung der Zellen, dem Umbau von Zellstrukturen (Remodelling) bis hin zum Zelltod. Bedenkt man die Bedeutung des α_1 -AR für die Funktion der glatten Muskulatur, so ist eine entscheidende Rolle von agonistischen Autoantikörpern, die diesen Rezeptor attackieren, für die Entstehung von Gefäßschäden zwingend anzunehmen.

PATHOLOGISCHE SIGNIFIKANZ VON AGONISTISCHEN AUTOANTIKÖRPERN GEGEN G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN

Die Bedeutung von Autoimmungeschehen gegen GPCR für die Entstehung und den Verlauf der betreffenden Krankheiten war lange Zeit unklar und wurde kontrovers diskutiert. Hier lieferten Tierversuche wertvolle Erkenntnisse zur Kausalität von receptorspezifischen Autoantikörpern für die Entstehung der Krankheit oder krankheitsrelevanter Symptome. Eine solche Kausalität konnte für β_1 -AR-Autoantikörper bei der dilatativen Kardiomyopathie, dem bislang am umfassendsten untersuchten Autoimmungeschehen

gegen einen GPCR, für Autoantikörper gegen den Angiotensin I-Rezeptor (AT1-R) bei Schwangerschafts-bedingtem Bluthochdruck (Präeklampsie) sowie renaler Transplantatabstoßung tierexperimentell nachgewiesen werden (11–13). Das gefäßschädigende Potential von Antikörpern, die gegen den α_1 -AR gerichtet sind, wurde erstmals in Ratten gezeigt, die mit den entsprechenden Rezeptorpeptiden immunisiert wurden (14). Die immunisierten Tiere entwickelten Antikörper gegen den α_1 -AR und zeigten pathologische Veränderungen in peripheren Gefäßen wie Aorta und Mesenterialarterien (Abb. 1).

Um die Relevanz eines Autoimmungeschehens gegen den α_1 -AR, das von uns bei Patienten mit vaskulärer Demenz und Alzheimer Demenz nachgewiesen wurde, für die Entstehung von Gefäßschäden im Gehirn zu klären, untersuchten wir an einem Tiermodell den Einfluss von α_1 -AR-Antikörpern auf die Makro- und Mikrovaskulatur des Rattenhirns mittels MRT-Techniken. Nach einem Zeitraum von acht Monaten zeigte sich in der Magnetresonanztomographie (MRA) eine signifikante Reduktion der Durchblutung von Makrogefäßen in den Antikörper-exponierten Tieren (15, Abb. 2). Bestimmungen des zerebralen Blutvolumens durch Magnetresonanz Imaging (MRI) mit dem Kontrastmittel Ferumoxylol zeigten ebenfalls eine reduzierte Durchblutung der kleinen Gefäße im Cerebrum und in Gehirnbereichen wie dem Cortex und dem Hippocampus (16). Mit Immunfluoreszenzmikroskopie konnte eine signifikante Abnahme der Gefäßdichte in Schnitten des Cortex nachgewiesen werden (Abb. 3). Ebenfalls wiesen die Virchow-Robinschen Räume der behandelten Tiere eine höhergradige Dilatation auf (Abb. 4). Eine übermäßige Dilatation der Virchow-Robinschen Räume gilt als Indikator für das Vorhandensein von Mikroangiopathien. Somit konnten wir nachweisen, dass Antikörper gegen den α_1 -AR Schäden sowohl im makroaskulären als auch im mikrovaskulären Gefäßsystem des Rattenhirns induzieren. Weitere mikroskopische Analysen der Gewebepreparate dieser Tiere zeigten, dass die durch Antikörper ausgelösten Gefäßschäden nicht auf die Hirnregion beschränkt waren, sondern auch in der Niere auftraten. Diese Befunde implizieren eine generelle Signifikanz der α_1 -AR-Autoantikörper für die Pathogenese und Progression von Krankheiten mit einer ausgeprägten Gefäßkomponente wie Demenz und Typ-2-Diabetes.

Therapeutische Optionen Therapeutische Ansätze können auf zwei verschiedenen Prinzipien basieren:

- Funktionelle Ausschaltung des agonistischen Autoantikörpers

- Entfernung des agonistischen Autoantikörpers aus dem Blutkreislauf

Funktionelle Ausschaltung des agonistischen Autoantikörpers

Ziel eines solchen Ansatzes ist es, die Interaktion des Antikörpers mit dem betroffenen GPCR zu verhindern. Das kann pharmakologisch durch Rezeptorantagonisten erfolgen, von denen bekannt ist, dass sie durch Konformationsänderungen des Rezeptormoleküls die Bindung des Autoantikörpers schwächen und diesen dadurch vom Rezeptor ablösen können. Zu den meisten krankheitsrelevanten GPCR existieren bereits Rezeptorantagonisten, die klinisch eingesetzt werden. Diese Option ist kostengünstig und für eine große Patientenzahl anwendbar. Nachteilig ist, dass diese pharmakologischen Substanzen mit erheblichen Nebenwirkungen behaftet sein können und natürlich auch die physiologische Rezeptorfunktion beeinflussen.

Ein anderes Prinzip nutzt die Spezifität des Antikörpers für sein Antigen. Die Bindungsepitope am Rezeptor, z.B. die betroffene extrazelluläre Schleife, sind für eine Reihe krankheitsassoziierter Autoantikörper aufgeklärt worden. Hier können niedrigmolekulare Verbindungen entwickelt werden, naheliegend sind Peptide und deren Modifizierungen, die spezifisch an die zirkulierenden Autoantikörper binden und diese funktionell neutralisieren. Solche Ansätze wurden für Autoantikörper gegen den β_1 -AR beschrieben, die bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie auftreten (17, 18). Diese Verfahren befinden sich jedoch im Entwicklungsstadium und sind noch nicht für die klinische Praxis verfügbar.

Entfernung der agonistischen Autoantikörper aus dem Blutkreislauf

Apherese-Techniken zur extrakorporalen Blutreinigung werden im großen Maßstab bei den verschiedensten Indikationen eingesetzt. Das bekannteste Verfahren ist die Dialyse bei der das Apherese-system als künstliche Niere fungiert. Die Immunapherese entfernt Bestandteile des Immunsystems aus dem Blutkreislauf und ist eine effiziente Therapieoption bei Autoimmunerkrankungen. Eine Reihe von Autoimmunerkrankungen sind medikamentös nicht oder nur unzureichend behandelbar. Hierzu zählt das Autoimmungeschehen bei dilatativer Kardiomyopathie. Bei dieser Herzerkrankung spielen agonistische Autoantikörper gegen den β_1 -AR eine fatale Rolle. Die therapeutische Immunapherese wurde hier erstmals mit großem Erfolg bei einem Autoimmungeschehen eingesetzt, das gegen einen GPCR gerichtet ist (19). Die Entfernung der Antikörper resultierte in einer

Tab. 1. Spezifität und Prävalenz agonistischer Autoantikörper gegen G-Protein gekoppelte Rezeptoren (GPCR)

Erkrankung	GPCR	Prävalenz
Dilatative Kardiomyopathie	β_1 -AR	70%
Dialysepatienten	α_1 -AR, AT ₁ -R	25%
Nierentransplantatabstoßung	AT ₁ -R	
Bluthochdruck	α_1 -AR, AT ₁ -R	30%
Typ-2-Diabetes-assoz. vask. Erkr.	α_1 -AR, AT-R, ETA-R	70%
Alzheimer / vaskuläre Demenz	α_1 -AR, β_2 -AR	59%
Prostatatumor	α_1 -AR	40%
Bürgerische Krankheit	α_1 -AR, AT ₁ -R, ETA-R, PAR	82%

Die angegebenen Prävalenzen basieren auf Daten aus der Antikörperdiagnostik von E.R.D.E. GmbH

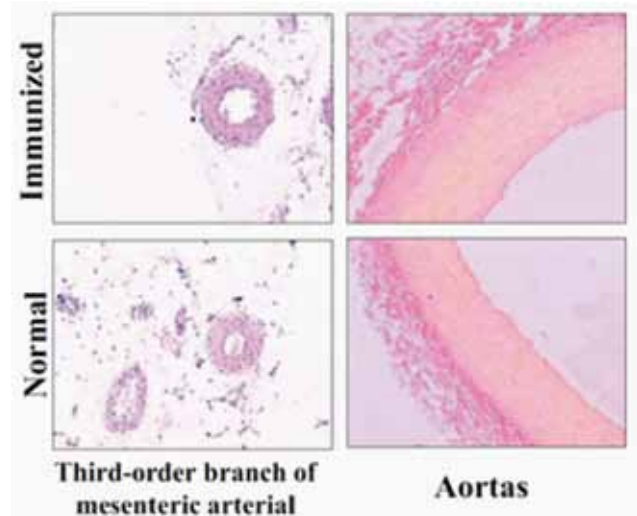


Abb. 1. Pathologische Veränderungen in Mesenterialarterie und Aorta von immunisierten Ratten, in denen Antikörper gegen den α_1 -Adrenozeptor induziert wurden. Die verdickten Gefäßwände sind Resultat einer verstärkten Zellhyperplasie. Abbildung aus (15).

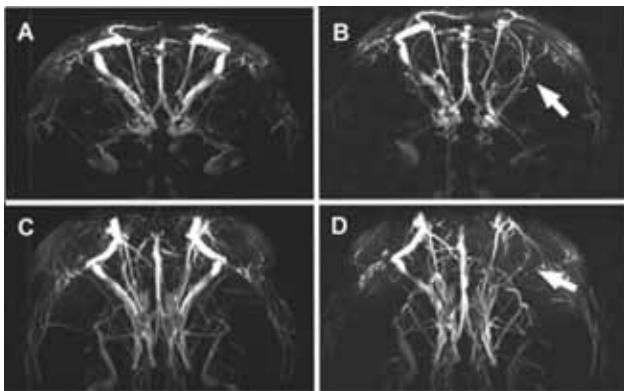


Abb. 2. TOF-MRA des Rattenhirns. Dreidimensionale Darstellung der koronaren Ansicht eines frontalen Hirnsegments. Angiographien des selben Tieres wurden zu Beginn der Behandlung mit einem α_1 -AR-spezifischen Antikörper (A, C) und 8 Monate später (B, D) aufgenommen. C, D zeigen die selben Hirnsegmente wie A, C um 45° vertikal gedreht. Die Pfeile markieren die massiven Läsionen nach 8 Monaten Antikörperbehandlung (B, D).

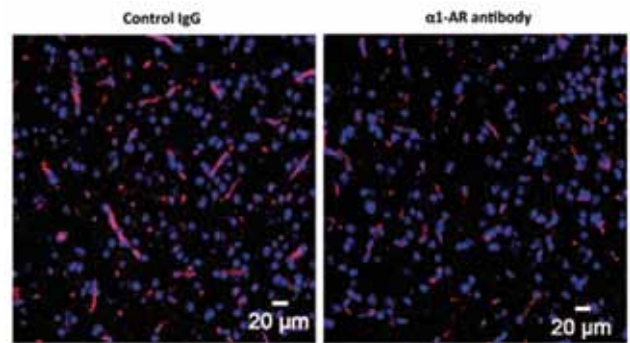


Abb. 3. Immunofluoreszenzfärbung der Blutgefäße in Schnitten des Rattenhirns mit Antikörpern gegen CD31. Die CD31-Signale (rote Färbung) waren stark reduziert im Cortex der Tiere, die mit dem α_1 -Adrenozeptor (α_1 -AR)-Antikörper behandelt wurden. Die Zellkerne sind mit DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindol) blau angefärbt.

signifikanten und in den meisten Fällen langfristig stabilen Verbesserung der Herzleistung (20). Die Verbesserungen der Myokardfunktion und Myokardmorphologie waren bei einigen Patienten so umfassend, dass auf eine Herztransplantation verzichtet werden konnte. Interessanterweise kommt es in den meisten Fällen zu keiner Neubildung der Autoantikörper.

AUTOANTIKÖRPER ASSOZIIERTE KRANKHEITEN

Demenz

Alzheimer-Demenz und vaskuläre Demenz stellen die Hauptformen der Demenzerkrankungen dar. Durchblutungsstörungen aufgrund von Schädigungen des zerebralen Gefäßsystems sind die Ursache der

vaskulären Demenz und werden zunehmend auch für die Entstehung und Progression der sporadischen, genetisch nicht determinierten Alzheimer-Demenz als mögliche Ursache diskutiert (21).

2010 publizierten wir erstmals, dass in einer Kohorte von 54 Patienten mit Alzheimer- und vaskulärer Demenz bei 59% der Patienten agonistisch wirkende Autoantikörper gegen den α_1 -AR nachgewiesen wurden (4). Einige Patienten wiesen zusätzlich einen Autoantikörper gegen den β_2 -AR auf. Am häufigsten trat der α_1 -AR-Autoantikörper in Kombination mit dem Autoantikörper gegen den β_2 -AR auf. Untersuchungen der Eigenschaften des α_1 -AR-Autoantikörpers ergaben, dass dieser selektiv an die erste extrazelluläre Schleife des α_1 -AR bindet. Der Autoantikörper mobilisierte rezeptorspezifisch das intrazelluläre Calcium in einer klonalen Zelllinie. Wie oben bereits beschrieben, konnten wir im Tiermodell die gefäßschädigende Wirkung des α_1 -AR-Autoantikörpers nachweisen. Verbesserungen der diagnostischen Techniken unseres Labors versetzten uns in die Lage, eine größere Zahl von Patientenseren und ein breiteres Spektrum von agonistischen Autoantikörpern zu analysieren. Inzwischen beläuft sich die Kohorte auf 350 untersuchte Patienten mit Demenz vom Typ Alzheimer und vaskuläre Demenz. Zeitlich parallel zu den oben behandelten tierexperimentellen Untersuchungen wurden in einer kleinen Studie den Patienten die agonistischen Autoantikörper durch eine unspezifische Immunapherese entfernt. Die Entfernung der agonistischen Autoantikörper erfolgte in der Charité Berlin und der Universitätsklinik Jena mit den Adsorbent Immunosorber/Globaffin der Firma Fresenius Medical Care GmbH über einen Zeitraum von 4/5 Tagen. Um in diese Studie eingeschlossen zu werden, war ein kognitiver Status des Patienten von einem MMSE (Mini-Mental State Examination) zwischen 20 und 27 Voraussetzung. Bei uneingeschränkter kognitiver Funktion liegt der MMSE-Wert im Bereich von 28–30. Die Nachbeobachtungszeit betrug 12–18 Monate.

Am Beispiel eines 70-jährigen Patienten soll der Effekt der Immunadsorption veranschaulicht werden. Der Ausgangswert des MMSE betrug 21 Punkte. Dabei wurde das Plasmavolumen täglich 2 bis 2,5 fach prozessiert. Nach einem Beobachtungszeitraum von 12 Monaten betrug der MMSE-Wert des Patienten 23. Die Abb. 5 veranschaulicht die Fortschritte des Patienten in seiner kognitiven Leistung anhand einer beim MMSE-Test verwendeten Aufgabe, dem Zeichnen zweier ineinander verschränkter Fünfecke. Nach Angaben der Familie unterhält sich der Patient in geselliger Runde, liest wieder den Spiegel und beteiligte sich an der Hausarbeit, kocht und bügelt. Allerdings

kann er die Standuhr der Familie nicht immer richtig stellen. Der behandelnde Arzt berichtete, dass es dem Patienten nach der Immunadsorption subjektiv und objektiv deutlich besser geht. Die früheren psychotischen Symptome (paranoide Ängste) sind seit der Apherese nicht mehr aufgetreten. Die Medikamente (Memantine und Rivastigmin) sind reduziert worden auf Exelon 4,5 Pflaster und Memantine 10 mg täglich.

Die Nachbeobachtung über 18 Monate der behandelten Patienten dauert noch an. Die Ergebnisse werden voraussichtlich im Sommer 2015 publiziert. Ebenfalls für 2015 ist eine neue Studie mit Ärzten der Charité Berlin geplant.

Typ-2-Diabetes

Die bei weitem häufigste Form der Volkskrankheit Diabetes ist der Typ-2-Diabetes. 90% der Menschen mit Diabetes leiden daran und nur etwa 5–10% sind dem Typ-1-Diabetes zuzuordnen (22). Bei den als diabetische Komplikationen bezeichneten Begleit- und Folgeerkrankungen sind vaskuläre Schäden besonders prominent. Diabetiker werden häufig auch als Gefäßkranke charakterisiert.

Unsere erste Untersuchung der Serumproben von Typ-2-Diabetikern aus deutschen Diabeteszentren zeigte, dass bei 53% der Diabetiker agonistisch wirkende Autoantikörper nachweisbar waren (23). Die nähere Klassifizierung der positiven Proben ergab, dass 36 % davon nicht nur einen sondern mehrere agonistisch wirkende Autoantikörper enthielten. 80% der positiven Proben wiesen agonistische Autoantikörper gegen den α_1 -AR und den AT_1 -R auf. In unserer jüngsten Untersuchung legten wir genaueres Augenmerk auf die beim Patienten diagnostizierten Folgeerkrankungen (u.a. Retinopathie, Nephropathie, Neuropathie, makroangiopathische Veränderungen wie Bluthochdruck, Schlaganfall, Myokardinfarkt, koronare Herzerkrankung). Wir untersuchten 41 Patienten mit Typ-2-Diabetes und einer Diabetesdauer von mindestens 20 Jahren von denen 20 keine und 21 alle Folgeerkrankungen aufwiesen (24). Während in der Diabetikergruppe mit Folgeerkrankungen 100% der Patienten Bluthochdruck hatten, waren in der Gruppe ohne Folgeerkrankungen 80% der Patienten hyperten. Die Prävalenz agonistisch wirkender Autoantikörper lag in der Gruppe mit Folgeerkrankungen bei 90% und bei der Diabetikern ohne Folgeerkrankungen bei 70%. Insbesondere agonistische Autoantikörper gegen den α_1 -AR in Kombination mit agonistische Autoantikörper gegen den Endothelin A-Rezeptor (ETA-R) und / oder den AT_1 -R waren nachweisbar.

Bei genauerer Betrachtung zeigte sich, dass bei Retinopathien, Nephropathien und Neuropathien keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit von ago-

nistisch wirkenden Autoantikörpern zwischen beiden Untersuchungsgruppen auftraten. Ganz anders bei den makroangiopathischen Erkrankungen. Hier zeigten sich deutlichere Unterschiede. Patienten mit hypertensiver Herzkrankheit wiesen mit 92% deutlich häufiger Autoantikörper auf als Patienten ohne (59%). Patienten mit KHK hatten zu 83% mindestens einen positiven agonistischen Autoantikörper vs. 66% der Patienten ohne KHK. Patienten mit Myokardinfarkt zeigten zu 100% agonistische Autoantikörper auf im Vergleich zu 66% der Patienten ohne Myokardinfarkt. Auch hier waren Kombinationen der agonistischen Autoantikörper eher zu finden als der Nachweis eines einzelnen.

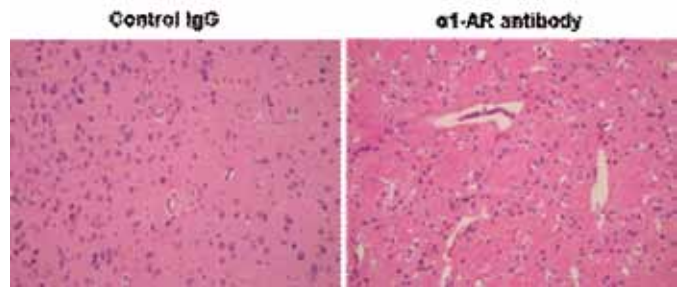


Abb. 4. Lichtmikroskopie von Hämatoxylin-Eosin-gefärbten Schnitten des Rattenhirns. In Hirnschnitten der $\alpha 1$ -Adrenozeptor ($\alpha 1$ -AR)-Antikörper behandelten Tieren war eine deutlich verstärkte Dilatation der Virchow-Robinschen Räume feststellbar.

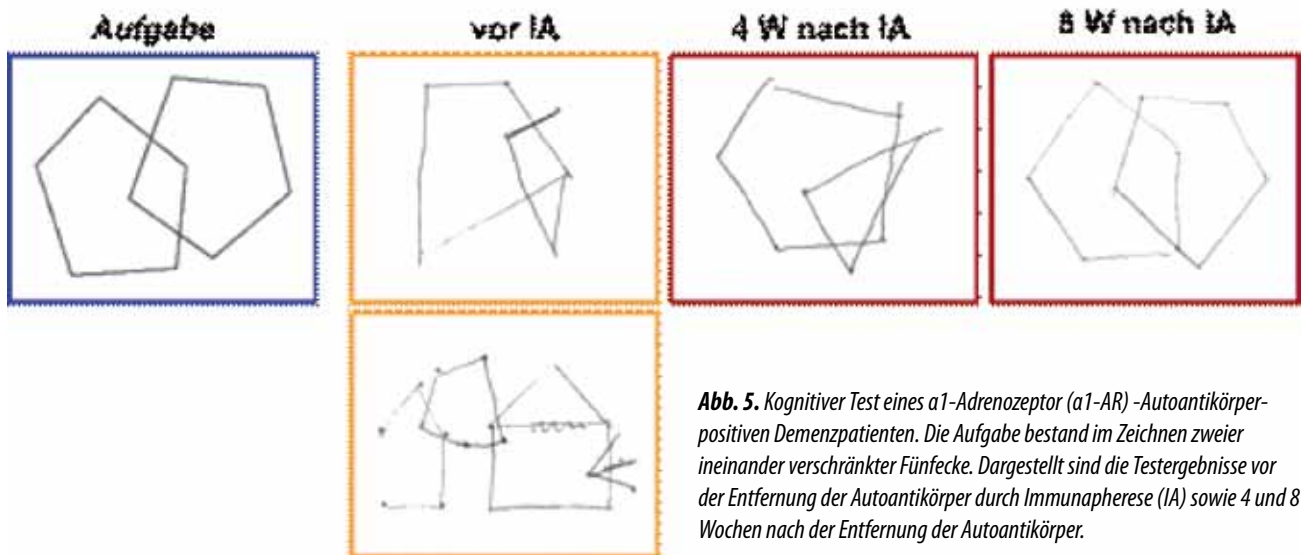


Abb. 5. Kognitiver Test eines $\alpha 1$ -Adrenozeptor ($\alpha 1$ -AR)-Autoantikörper-positiven Demenzpatienten. Die Aufgabe bestand im Zeichnen zweier ineinander verschränkter Fünfecke. Dargestellt sind die Testergebnisse vor der Entfernung der Autoantikörper durch Immunapherese (IA) sowie 4 und 8 Wochen nach der Entfernung der Autoantikörper.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass beim Krankheitsbild Typ-2-Diabetes und seinen Folgeerkrankungen agonistisch wirkende Autoantikörper insbesondere gegen den α_1 -AR in Kombination mit agonistischen Autoantikörper gegen den ETA-R und / oder AT₁-R von Bedeutung sind. Die frühzeitige Diagnose des Spektrums agonistischer Autoantikörper bei Typ-2-Diabetikern ist nach unserer Erkenntnis eine entscheidende Voraussetzung für die Prävention der Diabetes-typischen Begleiterkrankungen. Durch medikamentöse Intervention oder durch die extrakorporale Entfernung (Immunapherese) kann die Wirkung der agonistischen Autoantikörper reduziert oder nachhaltig ausgeschaltet werden. So profitierten in einer klinischen Studie zur dilatativen Kardiomyopathie 68% aller Patienten von der Entfernung der Antikörper durch Immunapherese, jedoch 93% der Diabetiker mit dilatativer Kardiomyopathie (Abb. 6) (25). Die Analyse des Autoantikörperspektrums durch unser Labor ergab, dass 93% dieser Diabetiker positiv für den gefäßschädigenden α_1 -AR-Autoantikörper waren.

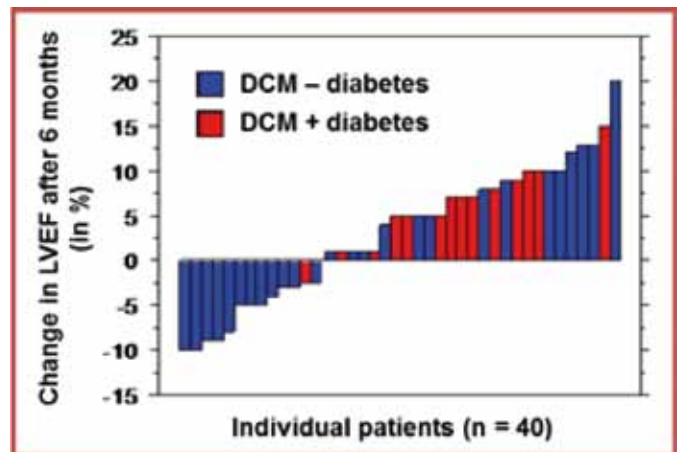


Abb. 6. Veränderung der Herzleistung (Linksventrikuläre Ejektionsfraktion LVEF) von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (DCM) 6 Monate nach einer Immunapherese. Dargestellt sind Patienten mit Diabetes (rote Säulen) und Patienten ohne Diabetes (blaue Säulen). Von den 14 Patienten mit Diabetes profitierten 13 von der Immunapherese (93%), während von 26 Patienten ohne Diabetes 14 mit einer verbesserten LVEF reagierten (54%). Daten modifiziert aus (25).

Bürgerische Krankheit (Thromboangiitis Obliterans)

Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine Vaskulitis, die meist in den unteren Extremitäten auftritt. Die Entzündung betrifft kleine und mittelgroße Arterien und Venen. Als mögliche Ursachen werden unter anderem auch Autoimmunprozesse diskutiert. In einer ersten kleinen Patientenkohorte im Helios Klinikum Berlin Buch wurden die Seren der TAO Patienten auf die Anwesenheit von agonistisch wirkenden Autoantikörper untersucht (26). Bei 9 von 11 Patienten wurden agonistisch wirkende Autoantikörper nachgewiesen. Auffällig war dabei, dass bei 73% der Patienten ein agonistischer Autoantikörper gegen den α_1 -AR und 55 % der Patienten zusätzlich ein Autoantikörper gegen den ETA-R gefunden wurden. Dabei trat der Autoantikörper gegen den ETA-R nie allein, sondern immer als Cluster mit dem α_1 -AR spezifischen Autoantikörper auf. Bei 3 der 11 Patienten wurden Autoantikörper gegen den AT1-R und bei 2 von 11 Patienten Autoantikörper gegen den Proteinase-aktivierten Rezeptor (PAR) nachgewiesen. Die Entfernung der agonistisch wirkenden Autoantikörper erfolgte durch Immunadsorption mit dem Adsorber Globaffin der Firma Fresenius Medical Care GmbH. Bei 82% aller Patienten wurden nach einer 5-tägigen Behandlung keine agonistischen Autoantikörper mehr nachgewiesen.

FAZIT

Die hier behandelten Beispiele von Autoantikörper-assoziierten Erkrankungen sind gegenwärtige Schwerpunkte der Diagnostik unseres Labors. Ein gemeinsamer Nenner dieser Krankheiten ist die vaskuläre Komponente. So stehen die Volkskrankheiten Typ-2-Diabetes und Demenz in enger Beziehung zueinander. Es gilt als gesichert, dass Diabetiker ein erhöhtes Risiko aufwiesen, langfristig an Demenz zu erkranken (27, 28). In beiden Krankheiten, wie auch in der Gefäßerkrankung Bürgerische Krankheit, konnten wir vaskulär wirksame agonistische Autoantikörper vor allem gegen den α_1 -AR, sowie gegen den AT1-R und den ETA-R nachweisen. Die prominente Stellung des α_1 -AR-Autoantikörpers in den von uns untersuchten Erkrankungen bestätigt uns in der Auffassung, dass dieser agonistische Autoantikörper ein Indikator für das Risiko der Entwicklung von Gefäßschäden ist.

Diese durch den α_1 -AR-Autoantikörper gegebene Verbindung zwischen verschiedenen Erkrankungen mit vaskulärer Komponente darf bei der Abschätzung von Folgerisiken der eigentlichen Grunderkrankung nicht unberücksichtigt bleiben. Bei den meisten Patienten fanden wir überwiegend Kombinationen dieser Autoantikörper, seltener ein singuläres Vorkommen eines einzelnen. Die Diagnostik des Spektrums

an agonistischen Autoantikörpern des Patienten ist deshalb essentiell für einen individuellen, optimierten Therapieansatz. Insbesondere für die Wahl, ob ein funktionelles Ausschalten des Autoantikörpers durch die Applikation von Rezeptorantagonisten oder dessen Entfernung durch Immunapherese in dem jeweils konkreten Fall indiziert ist. Eine möglichst frühzeitige differentielle Diagnostik des Autoantikörperspektrums ermöglicht eine schnellere und somit wirksamere individualisierte Therapie der Grunderkrankung und verbessert die Chancen der Prävention von Folgeerkrankungen für deren Entstehung vaskuläre Komplikationen eine signifikante Rolle spielen.

LITERATUR

1. ROSENBAUM DM, RASMUSSEN SGF ET AL. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature* (2009) 459, 356–363
2. DAVIES TF, ANDO T, LIN RY ET AL. Thyrotropin receptor-associated diseases: from adenomata to Graves disease. *J Clin Invest* (2005) 115, 1972–1983
3. WENZEL K, HAASE H, WALLUKAT G ET AL. Potential functional relevance of α_1 -adrenergic receptor autoantibodies in refractory hypertension. *PLoS ONE* (2008) 3, e3742
4. KARCZEWSKI P, HEMPEL P, KUNZE R ET AL. Agonistic autoantibodies to the α_1 -adrenergic receptor and the β_2 -adrenergic receptor in Alzheimer's and vascular dementia. *Scand J Immunol* (2012) 75, 524–530
5. MIJARES A, LEBESGUE D, WALLUKAT G ET AL. From agonist to antagonist: Fab fragments of an agonist-like monoclonal anti- β_2 -adrenoceptor antibody behave as antagonists. *Mol Pharmacol* (2000) 58, 373–379
6. THWAY TM, SHLYKOV SG, DAY M-C ET AL. Antibodies from preeclamptic patients stimulate increased intracellular Ca^{2+} mobilization through angiotensin receptor activation. *Circulation* (2004) 110, 1612–1619
7. ZHU F, SUN Y, LIAO Y ET AL. Agonistic AT1 receptor autoantibody increases in serum of patients with refractory hypertension and improves Ca^{2+} mobilisation in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Cellular & Molecular Immunology* (2008) 5, 209–217
8. BKAILY G, EL-BIZRI N, BUI M ET AL. Modulation of intracellular Ca^{2+} via L-type calcium channels in heart cells by the autoantibody directed against the second extracellular loop of the α_1 -adrenoceptors. *Can J Physiol Pharmacol* (2003) 81, 234–246
9. HEIN P, MICHEL MC. Signal transduction and Regulation: Are all α_1 -adrenergic receptor subtypes created equal? *Biochem Pharmacol.* (2007) 73, 1097–1106
10. KARCZEWSKI P, HAASE H, HEMPEL P ET AL. Agonistic antibody to the α_1 -adrenergic receptor mobilizes intracellular calcium and induces phosphorylation of a cardiac 15-kDa protein. *Mol Cell Biochem* (2010) 333, 233–242

11. **JAHNS R, BOIVIN V, HEIN L ET AL.** Direct evidence for a β_1 -adrenergic receptor-directed autoimmune attack as a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest* (2004) 113, 1419–1429
12. **ZHOU CC, ZHANG Y, IRANI R ET AL.** Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med* (2008) 14, 855–862
13. **DRAGUN D, MÜLLER DM, BRÄSEN JH ET AL.** Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* (2005) 352, 558–569
14. **ZHOU Z, LIAO Y, LI ET AL.** Vascular damages in rats immunized by α_1 -adrenoceptor peptides. *Cell Mol Immunol* (2008) 5, 349–356
15. **KARCZEWSKI P, POHLMANN A, WAGENHAUS B ET AL.** Antibodies to the α_1 -adrenergic receptor cause vascular impairments in rat brain as demonstrated by magnetic resonanceangiography. *PLoS ONE* (2012) 7, e41602
16. **POHLMANN A, KARCZEWSKI P, KU M-C ET AL.** Cerebral blood volume estimation by ferumoxytol-enhanced steady-state MRI at 9.4 T reveals microvascular impact of α_1 -adrenergic receptor antibodies. *NMR Biomed* (2014) 27, 1085–1093
17. **MÜNCH G, BOIVIN-JAHNS V, HOLTHOFF HP ET AL.** Administration of the cyclic peptide COR-1 in humans (phase I study): ex vivo measurements of anti- β_1 -adrenergic receptor antibody neutralization and of immune parameters. *Eur J Heart Fail* (2012) 14, 1230–1239
18. **HABERLAND A, WALLUKAT G, BERG S ET AL.** Neutralization of pathogenic beta1-receptor autoantibodies by aptamers in vivo: the first successful proof of principle in spontaneously hypertensive rats. *Mol Cell Biochem* (2014) 393, 1–2
19. **WALLUKAT G, REINKE P, DÖRFELL WV ET AL.** Removal of autoantibodies in dilated cardiomyopathy by immunoabsorption. *Int J Cardiol* (1996) 54, 191–195
20. **MÜLLER J, WALLUKAT G, DANDEL M ET AL.** Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* (2000) 101, 385–391
21. **DE LA TORRE.** Alzheimer disease as a vascular disorder: nosological evidence. *Stroke* (2002) 33, 1152–1162
22. **HEIDEMANN C, DU Y, SCHUBERT I, RATHMANN W ET AL.** Prävalenz und zeitliche Entwicklung des bekannten Diabetes mellitus – Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt* (2013) 56, 668–677
23. **HEMPEL P, KARCZEWSKI P, KOHNERT K-D ET AL.** Sera from patients with type 2 diabetes contain agonistic autoantibodies against G protein-coupled receptors. *Scand J Immunol* (2009) 70, 159–160
24. **MÜLLER N, BIMMLER M, HEMPEL P ET AL.** Prävalenz agonistischer Autoantikörper gegen G-Protein gekoppelte Rezeptoren bei Patienten mit Typ 2 Diabetes mit und ohne Folgeerkrankungen. *Diabetologie und Stoffwechsel* (2013) 8, P 217
25. **DOESCH AO, MUELLER S, KONSTANDIN M ET AL.** Effects of protein A immunoabsorption in patients with chronic dilated cardiomyopathy. *J Clin Apher* (2010) 25, 315–322
26. **KLEIN-WEIGEL PF, BIMMLER M, HEMPEL P ET AL.** G-protein coupled receptor auto-antibodies in thromboangiitis. A obliterans (Buerger's disease) and their removal by immunoabsorption. *Vasa* (2014) 43, 347–352
27. **UMEGAKI H.** Type 2 diabetes as a risk for cognitive impairment: current insights. *Clin Interv Aging* (2014) 9, 1011–1019
28. **WINKLER A, DLUGAJ M, WEIMAR C ET AL.** Association of diabetes mellitus and mild cognitive impairment in middle-aged men and women. *J Alzheimer's Disease* (2014) 42, 1269–1277