

# SPECULUM

Geburtshilfe / Frauen-Heilkunde / Strahlen-Heilkunde / Forschung / Konsequenzen

Homuth V, Fischer T, Haller H, Jüpner A, Lindschau C  
Luft FC, Wallukat G

**Charakterisierung von agonistisch wirksamen  
Autoantikörpern gegen den Angiotensin AT1-Rezeptor  
bei Patientinnen mit Präeklampsie und  
HELLP-Syndrom**

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2000; 18 (3)  
(Ausgabe für Schweiz), 6-6*

*Speculum - Zeitschrift für Gynäkologie und Geburtshilfe 2000; 18 (3)  
(Ausgabe für Österreich), 6-14*

Homepage:

**[www.kup.at/speculum](http://www.kup.at/speculum)**

Online-Datenbank  
mit Autoren-  
und Stichwortsuche

Krause & Pachernegg GmbH • Verlag für Medizin und Wirtschaft • A-3003 Gablitz

P.b.b. 02Z031112 M, Verlagsort: 3003 Gablitz, Linzerstraße 177A/21

**Erschaffen Sie sich Ihre  
ertragreiche grüne Oase in  
Ihrem Zuhause oder in Ihrer  
Praxis**

**Mehr als nur eine Dekoration:**

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate,  
Kräuter und auch Ihr Gemüse  
ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller  
Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz  
ohne grünen Daumen?

**Dann sind Sie hier richtig**





# Charakterisierung von agonistisch wirksamen Autoantikörpern gegen den Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptor bei Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom

V. Homuth, G. Wallukat, T. Fischer,  
C. Lindschau, A. Jüpner, H. Haller,  
F. C. Luft

**E**ine gesteigerte vaskuläre Sensitivität für Angiotensin II spielt wahrscheinlich eine bedeutsame Rolle in der Pathogenese der Präeklampsie. Immunologische Phänomene wurden bei der Präeklampsie wiederholt beschrieben. Wir fanden im Serum von Patientinnen mit essentieller Hypertonie Autoantikörper gegen adrenerge  $\alpha_1$ -Rezeptoren, die den Rezeptor stimulieren. Daher testeten wir die Hypothese, daß Patientinnen mit Präeklampsie Autoantikörper gegen vaskuläre Hormonrezeptoren entwickeln. **Patienten und Methodik:** Wir untersuchten Serumproben von 25 Patientinnen mit Präeklampsie präpartal, davon 7 Patientinnen auch postpartal. 11 dieser Patientinnen entwickelten ein HELLP-Syndrom. Als Kontrollpersonen untersuchten wir eine Gruppe von 12 altersentsprechenden normotensiven Schwangeren und 10 schwangeren Patientinnen mit essentieller Hypertonie. Mittels chronotroper Reaktionen und deren Blockade durch Losartan wurden Antikörper gegen Angiotensin-AT<sub>1</sub>-Rezeptoren im Bioassay der spontan pulsierenden neonatalen Rattenherzmuskelzellen bestimmt. **Ergebnisse:** Immunglobuline von allen Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-

Syndrom stimulierten den Angiotensin-AT<sub>1</sub>-Rezeptor. Immunglobuline von normotonen Schwangeren und schwangeren Patientinnen mit essentieller Hypertonie hatten keinen Einfluß auf den AT<sub>1</sub>-Rezeptor. Die gesteigerte Autoimmunaktivität der Präeklampsiepatientinnen war postpartal signifikant vermindert. Mittels affinitätschromatischer Reinigung und antihumaner IgG- und IgM-Antikörper wurde die gegen den AT<sub>1</sub>-Rezeptor gerichtete Aktivität als die eines IgG-Antikörpers identifiziert. Sowohl Losartan als auch synthetische Peptide der zweiten extrazellulären Schleife des AT<sub>1</sub>-Rezeptors inhibierten den stimulatorischen Effekt des Antikörpers. Die Westernblotanalyse mit einer gereinigten IgG-Fraktion von Präeklampsiepatientinnen und einem kommerziell verfügbaren anti-AT<sub>1</sub>-Rezeptorantikörper ergab Proteine mit identischen Banden. Ebenso zeigte die konfokale Mikroskopie von vaskulären glatten Muskelzellen eine Co-Lokalisation von kommerziellen anti-AT<sub>1</sub>-Antikörpern und gereinigter Präeklampsie-IgG-Fraktion. Zur Identifizierung des Bindungssepitops am AT<sub>1</sub>-Rezeptor untersuchten wir den Effekt von kurzen überlappenden Peptiden der zweiten extrazellulären Schleife des AT<sub>1</sub>-Rezeptors. Die Aminosäurefrequenz AFHYESQ hemmte den frequenzstimulierenden Effekt der Immunglobuline vollständig und charakterisiert daher sehr wahrscheinlich die Bindungsstelle für den AT<sub>1</sub>-Antikörper. Durch den Proteinkinase C-Hemmer Calphostin C wurde der frequenzsteigernde AT<sub>1</sub>-Antikörperereffekt wieder aufgehoben. **Schlußfolgerungen:** Unsere Untersuchungsbefunde zeigen, daß Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom Autoantikörper gegen den Angiotensin-AT<sub>1</sub>-Rezeptor entwickeln, die den Rezeptor stimulieren. Diese Autoantikörper sind möglicherweise in Angiotensin-vermittelte Gefäßschäden dieser Patientinnen involviert. Insbesondere zur Verbesserung der kindlichen Prognose bei einem frühen Auftreten der Präeklampsie sind daraus ableitbare Behandlungsstrategien für eine Verlängerung der Schwangerschaft vorstellbar, z. B. die Entfernung der Antikörper durch spezifische Immunadsorptionsverfahren oder die Suppression von Antikörperereffekten durch Kortikosteroide und Heparin.

## Einleitung

Die Präeklampsie, insbesondere HELLP-Syndrom und Eklampsie als ihre gravie-

rendsten Verlaufsformen, gehört unverändert zu den häufigsten Ursachen für mütterliche und neonatale Morbidität und Mortalität. Ihre Genese ist unbekannt und daher sind kausale Behandlungsmöglichkeiten, abgesehen von einer vorzeitigen Schwangerschaftsbeendigung, nicht gegeben. Wahrscheinlich spielen frühe Störungen der Plazentation eine wesentliche Rolle für die Entwicklung der Präeklampsie. Die unvollständige Trophoblasteninvasion in den myometralen Anteil der Spiralarterien führt zu einem verminderten intervillösen Blutfluß und einer damit verbundenen Hypoxie der fetoplazentaren Einheit [1, 2]. Die plazentare Hypoperfusion verursacht wahrscheinlich durch eine Endothelzellschädigung einen abnormalen Prostaglandinmetabolismus, eine intravaskuläre Aktivierung des Gerinnungssystems und eine erhöhte vaskuläre Sensitivität auf pressorisch wirksame Substanzen, wie Angiotensin II [3, 4]. Eine Reihe von Untersuchungsbefunden spricht dafür, daß zirkulierende Faktoren für diese Endothelzellfunktion verantwortlich sind [5]. Wir konnten zeigen, daß Serum von Präeklampsiepatientinnen verstärkt ICAM-1-Adhäsionsmoleküle auf kultivierten endothelialen Zellen aus humanen Nabelschnurvenen exprimiert, verbunden mit einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration. Dieser Effekt war nach der Geburt nicht mehr nachweisbar [6]. Weiterhin beobachteten wir, daß Serum von Präeklampsiepatientinnen die Permeabilität endothelialer Zellkulturen für Albumin erheblich steigert [7]. Auch dieser Effekt war postpartal signifikant vermindert. Serum von normotensiven Schwangeren, schwangeren Frauen mit essentieller Hypertonie, altersentsprechenden Patientinnen mit essentieller Hypertonie und gesunden, nicht schwangeren Frauen hatte keinen Einfluß auf die endotheliale Permeabilität und die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle. Bei der Suche nach dafür verantwortlichen zirkulierenden Faktoren konzentrierten wir uns auf in der Pathogenese der Präeklampsie ebenfalls seit längerem diskutierte, immunologische Mechanismen. Ausgehend von der Beobachtung, daß Patienten mit primärer Hypertonie in einem relativ hohen Prozentsatz agonistisch wirksame Autoantikörper gegen adrenerge  $\alpha_1$ -Rezeptoren entwickeln [8], testeten wir die Hypothese, daß Präeklampsiepatientinnen funktionell wirksame Antikörper gegen vaskuläre Hormonrezeptoren bilden. Da eine erhöhte vaskuläre Sensitivität gegenüber Angiotensin II

typisch für die Entwicklung einer Präeklampsie ist, waren Angiotensin II-Rezeptoren von vorrangigem Interesse. Mittels Bioassay der spontan pulsierenden, kultivierten, neonatalen Rattenherzmuskelzellen, Westernblot und konfokaler Mikroskopie konnten wir zeigen, daß Immunglobuline von Patientinnen mit Präeklampsie einen Faktor enthalten, der den Angiotensin  $AT_1$ -Rezeptor stimuliert [9].

### Patienten und Methodik

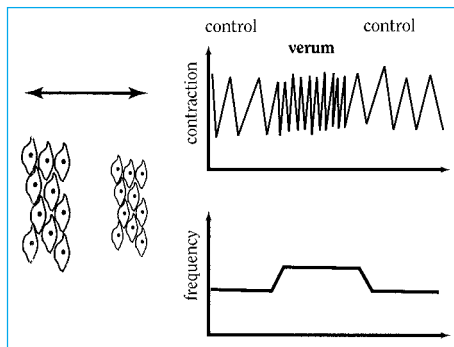
Wir untersuchten 25 Patientinnen mit Präeklampsie (erstmaliges Auftreten einer arteriellen Hypertonie  $> 140/90$  mmHg und einer Proteinurie  $> 300$  mg/l im 24 h-Urin nach der 20. Schwangerschaftswoche). Davon waren 19 Primipara und 6 Multipara. Eine der Patientinnen mit essentieller Hypertonie entwickelte eine Pfortpfgestose nach der 20. Schwangerschaftswoche (s. auch Abb. 4). Als Vergleichsgruppe dienten 12 gesunde Schwangere im Alter zwischen 21 und 32, im Mittel 27 Jahren, und 10 altersentsprechende schwangere Frauen mit präexistenter essentieller Hypertonie im Alter zwischen 20 und 40, im Mittel 32 Jahren. 11 der Präeklampsiepatientinnen entwickelten ein HELLP-Syndrom (Thrombozytenabfall  $< 100.000/\mu\text{l}$ , Anstieg von Serumtransaminasen und LDH, Abfall von Serumhaptoglobin). Die präpartalen Serumproben wurden zum Zeitpunkt der Diagnose der Präeklampsie, bei den Kontrollpersonen im 3. Trimenon der Schwangerschaft entnommen. Bei 7 der Präeklampsiepatientinnen wurden auch postpartale Serumproben gewonnen. Zur Bestimmung von Autoantikörpern gegen Angiotensin  $AT_1$ -Rezeptoren und adrenerge  $\alpha_1$ -Rezeptoren verwendeten wir das Bioassay der spontan pulsierenden, kultivierten, neonatalen Rattenherzmuskelzellen, gewonnen aus Ventrikeln 1 bis 3 Tage alter Wistar-Ratten. Der Nachweis der Autoantikörper erfolgte mittels ihres chronotropen Effekts auf die Pulsationsrate dieser Herzmuskelzellen sowie dessen Blockierung durch den Angiotensin  $AT_1$ -Antagonisten Losartan, den adrenergen  $\alpha_1$ -Blocker Prazosin und synthetische, gegen die 2. extrazelluläre Schleife des  $AT_1$ -Rezeptors gerichtete Peptide (Abb. 1). Die Immunglobulinfraktion wurde durch Ammoniumsulfatfällung aus den Patienten- und Kontrollenseren präzipitiert. Zur näheren Charakterisierung der Autoantikörper wurde die Immunglobulinfraktion affinitätschromatographisch über Peptid-

Sepharosesäulen gereinigt. Für die immunzytochemischen und Westernblot-Experimente verwendeten wir aortale vaskuläre glatte Muskelzellen von Ratten, kommerzielle Antikörper gegen  $AT_1$ -Rezeptoren sowie farbstoffmarkiertes Antihuman-IgG.

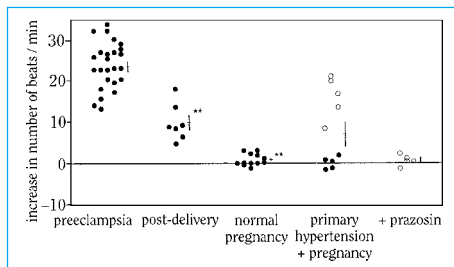
**Ergebnisse**

Die Abbildung 2 zeigt das Verhalten der spontanen Pulsationsrate neonataler Rattenkardiomyozyten nach Einwirkung von Immunglobulinen von Patientinnen mit Präeklampsie, normalen Schwangeren und Schwangeren mit essentieller Hypertonie. Immunglobuline von Präeklampsiepatientinnen führten zu einer Erhöhung der spontanen Pulsationsrate um durchschnittlich 23 Schläge/Minute. Postpartal war dieser Anstieg signifikant vermindert. Dagegen wurde die Pulsationsrate durch Immun-

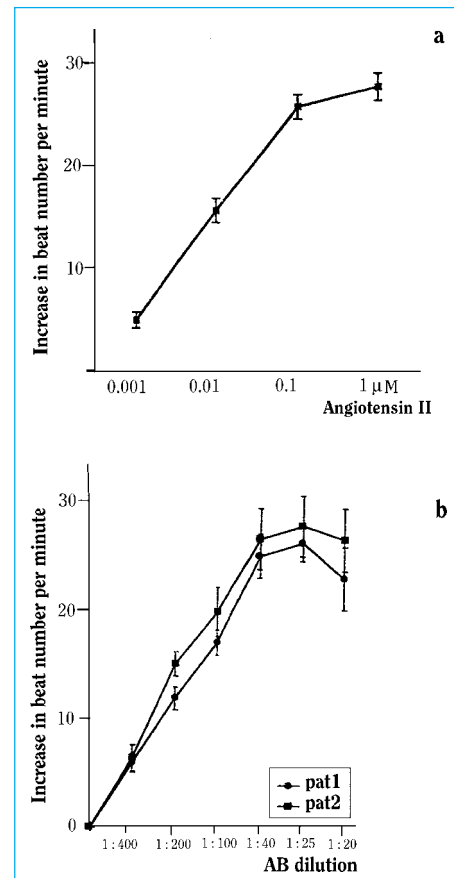
globuline von normalen Schwangeren nicht beeinflusst. Die Immunglobulinfraktion von 5 der schwangeren Patientinnen mit essentieller Hypertonie steigerten gleichfalls die Pulsationsrate der Kardiomyozyten. Durch Zugabe des adrenergen  $\alpha_1$ -Rezeptor-Blockers Prazosin konnte dieser Effekt vollständig gehemmt werden. Diese Reaktion spricht dafür, daß ein Teil der Patientinnen mit essentieller Hypertonie eine Immunglobulinfraktion besitzt, die mit dem  $\alpha_1$ -Rezeptor interagiert, ein Befund, den wir bereits in früheren Untersuchungen bei Patienten mit essentieller Hypertonie beobachtet haben [8]. Die Abbildung 3a zeigt den Effekt von Angiotensin II auf die spontane Pulsationsrate der Rattenherzmuskelzellen als einen dosisabhängigen Anstieg. Diese Reaktion ist selektiv durch den Angiotensin  $AT_1$ -Rezeptor-Antagonisten Losartan zu blockieren, nicht jedoch durch den Angiotensin  $AT_2$ -Rezeptor-Antagonisten PD123319. Eine



**1:** Schematische Darstellung des Bioassays der spontan pulsierenden neonatalen Rattenherzmuskelzellen. Typisch für diese Zellen ist eine konstante basale Schlagfrequenz (durchschnittlich 160 Schläge/Minute). Eine agonistisch wirksame Substanz (z. B. Katecholamine, Angiotensin II) führt zu einer signifikanten Frequenzsteigerung. Nach Abklingen dieses Substanzeffektes erreicht die Pulsationsrate wieder die basale Ausgangsfrequenz.

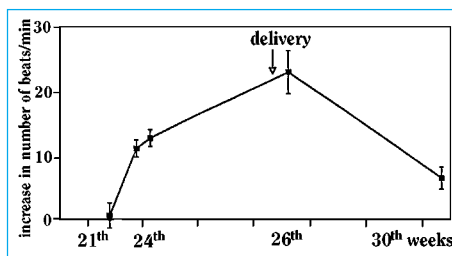


**2:** Verhalten der spontanen Pulsationsrate kultivierter neonataler Rattenherzmuskelzellen nach Inkubation von Immunglobulinen von Patientinnen mit Präeklampsie (prä- und postpartal), normalen Schwangeren und Schwangeren mit essentieller Hypertonie. Hemmung des Frequenzanstieges bei essentieller Hypertonie durch den adrenergen  $\alpha_1$ -Blocker Prazosin [9].

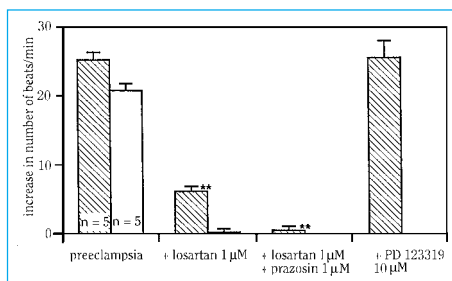


**3: a** Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Angiotensin II-Konzentration und spontaner Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen. **b** Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen absteigenden Verdünnungsreihen der Immunglobulinfraktion von 2 Präeklampsiepatientinnen und spontaner Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen [9].

im Vergleich zum Angiotensineffekt nahezu identische Dosis-Wirkungs-Kurve sahen wir mit Verdünnungsreihen der Immunglobulinfraktion von 2 Präeklampsiepatientinnen (Abb. 3b). Die Abbildung 4 spiegelt den kasuistischen Verlauf einer 26jährigen Patientin mit essentieller Hypertonie wider, die in der 23. Schwangerschaftswoche das klinische Bild einer Pfortpfgestose entwickelte (signifikanter Blutdruckanstieg, erstmaliges Auftreten einer Proteinurie) und in der 26. Schwangerschaftswoche wegen Ausbildung eines HELLP-Syndroms operativ entbunden werden mußte. Während Immunglobuline dieser Patientin in der 21. Schwangerschaftswoche keinen Einfluß auf die Pulsationsrate der Kardiomyozyten hatten, führten 2 Proben aus der 24. Schwangerschaftswoche jeweils zu einem deutlichen Frequenzanstieg sowie eine weitere zu einem Maximum während der 26. Schwangerschaftswoche, dem Zeitpunkt der Geburt. Eine Untersuchung 5 Wochen postpartal zeigte keine Änderung der basalen Pulsationsrate. Diese Befunde sprechen dafür, daß Immunglobuline von Präeklampsiepatientinnen eine Fraktion enthalten, die die spontane Pulsationsfrequenz neona-



**4:** Verhalten der spontanen Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen nach Inkubation mit Immunglobulinen einer Patientin mit essentieller Hypertonie und einer sich ab 23. Schwangerschaftswoche entwickelnden Pfortpfräeklampsie.

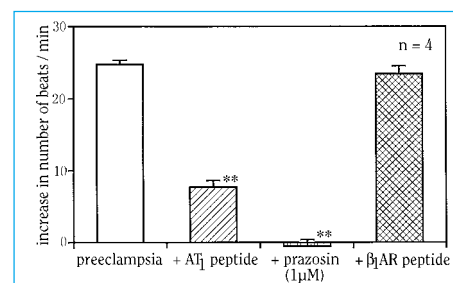


**5:** Einfluß der Immunglobuline von Patientinnen mit Präeklampsie auf die spontane Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen. Vollständige Hemmung des Frequenzanstiegs durch Losartan (5 Patientinnen – offene Säulen) und zusätzliche Hemmung durch Prazosin (5 Patientinnen – quergestreifte Säulen). Keinen Einfluß auf den immunoglobulinverursachten Frequenzanstieg hat der ATII-Rezeptor-Blocker PD123319 [9].

taler Rattenherzmuskelzellen erhöht. Bereits kurz nach der Geburt ist dieser Effekt signifikant vermindert.

Der durch Angiotensin und durch Immunglobuline von Präeklampsiepatientinnen vermittelte Anstieg der Pulsationsfrequenz neonataler Rattenherzmuskelzellen wird durch die Präinkubation des AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten Losartan blockiert. Bei einem Teil der Proben war der immunoglobulinbedingte Frequenzanstieg erst nach zusätzlicher Gabe des adrenergen  $\alpha_1$ -Rezeptor-Blockers Prazosin vollständig zu hemmen, wodurch eine zusätzliche  $\alpha_1$ -Rezeptor-Wirkung wahrscheinlich wird. Die Präinkubation des Angiotensin AT<sub>2</sub>-Rezeptor-Blockers PD123319 hatte dagegen keinen Einfluß auf die frequenzsteigernde Wirkung der Immunglobuline (Abb. 5).

Zur weiteren Charakterisierung dieses Immunglobulineffektes von Präeklampsiepatientinnen präinkubierten wir ein Peptid, das in seiner Zusammensetzung der 2. extrazellulären Schleife des Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptors entspricht (Aminosäuresequenz 165–191 des AT<sub>1</sub>-Rezeptors). Dieses Vorgehen verminderte den frequenzstimulierenden Effekt um ca. zwei Drittel. Eine vollständige Blockade war auch hier durch die Zugabe von Prazosin zu erreichen. Um einen unspezifischen Peptideffekt auszuschließen, inkubierten wir Präeklampsie-immunglobuline mit einem synthetischen Peptid, das der 2. extrazellulären Schleife des  $\beta_1$ -Rezeptors entsprach. Das Peptid hatte keinen Einfluß auf die spontane Pulsationsfrequenz (Abb. 6).

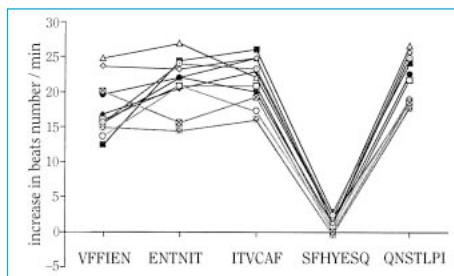


**6:** Einfluß der Immunglobuline von Patientinnen mit Präeklampsie auf die spontane Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen. Unvollständige Hemmung des Frequenzanstiegs durch Präinkubation eines der 2. extrazellulären Schleife des ATII-Rezeptor entsprechenden synthetischen Peptids. Vollständige Blockierung des Frequenzanstiegs durch die zusätzliche Einwirkung des  $\alpha_1$ -Blockers Prazosin. Die Präinkubation eines der 2. extrazellulären Schleife des  $\beta_1$ -Rezeptors entsprechenden Peptids beeinflusst den Frequenzanstieg nicht [9].

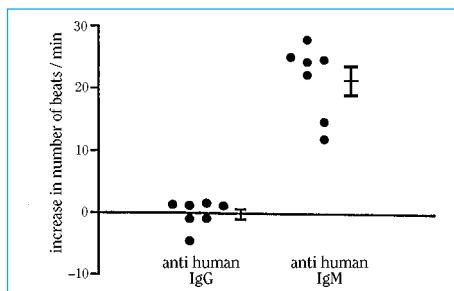
Diese Reaktionen sprechen für die Spezifität des gegen den AT<sub>2</sub>-Rezeptor gerichteten Antikörpereffektes. Der folgende Untersuchungsschritt diente der Charakterisierung des für die Antikörperbindung verantwortlichen Epitops der 2. extrazellulären Schleife des AT<sub>1</sub>-Rezeptors (Abb. 7). Die Reaktion auf kurze überlappende Peptide der 2. extrazellulären Schleife des AT<sub>1</sub>-Rezeptors zeigt, daß nur die Aminosäuresequenz AFHYESQ den Anstieg der Pulsationsfrequenz hemmt und somit als Bindungsepitop angesehen werden kann.

Zur Beantwortung der Frage, welcher Immunglobulinfraction die beschriebenen Antikörper der Präeklampsiepatientinnen angehören, präinkubierten wir antihumanes IgG und IgM (Abb. 8). Die durch AT<sub>1</sub>-Antikörper hervorgerufene Frequenzsteigerung wurde mittels antihumanem IgG vollständig aufgehoben. Antihumanes IgM hatte keinen Einfluß auf die Frequenzsteigerung. Demzufolge handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um einen IgG-Antikörper der Immunglobulinfraction von Präeklampsiepatientinnen. Die Westernblotanalyse (Abb. 9) mit einem kommerziell verfügbaren

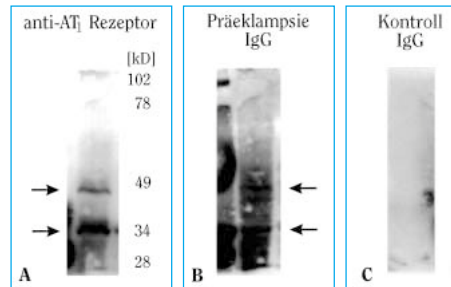
anti-AT<sub>1</sub>-Rezeptorantikörper zeigt ein Protein bei 49 kDa (Abb. 9A). Proteine mit der gleichen Größe werden von Antikörpern der IgG-Fraktion von Präeklampsiepatientinnen erkannt (Abb. 9B). Die IgG-Fraktion von normalen Schwangeren führt zu keinem äquivalenten Band im Westernblot (Abb. 9C). Die Abbildung 10 zeigt konfokale Mikroskopiebilder von vaskulären glatten Muskelzellen der Rattenaorta (VSMC), die mit kommerziell verfügbaren AT<sub>1</sub>-Antikörpern und mit der IgG-Fraktion von Präeklampsiepatientinnen inkubiert wurden. Cy3-markierte, antihumane IgG-Antikörper führen zu einer fokalen (roten) Farbmarkierung (Abb. 10, links). Die gleichzeitig erfolgte Inkubation von VSMCs mit kommerziell verfügbaren anti-AT<sub>1</sub>-Antikörpern (aus Kaninchen) und einem Cy2-markierten anti-Kaninchen IgG-Antikörper verursacht fokale eine grüne Farbmarkierung (Abb. 10, mittleres Bild). Die Überlagerung beider Bilder zeigt eine Co-Lokalisation der Antikörper (gelbe Farbmarkierung Abb. 10, rechts). Dieselbe Kontrolle mit der IgG-Fraktion von normalen Schwangeren führt



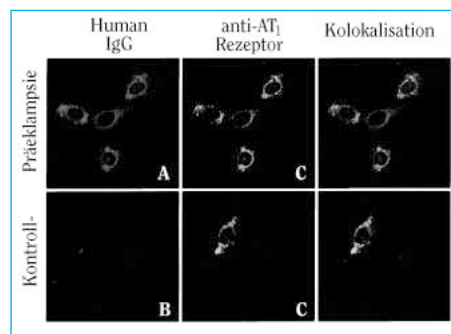
7: Effekt kurzer überlappender Peptide der 2. extrazellulären Schleife des AT<sub>1</sub>-Rezeptors auf den durch Immunglobuline von Präeklampsiepatientinnen hervorgerufenen Frequenzanstieg der spontanen Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen [9].



8: Einfluß der Immunglobuline von Patientinnen mit Präeklampsie auf die spontane Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen. Vollständige Hemmung des Frequenzanstiegs durch antihumanes IgG. Keinen Einfluß auf den immunoglobulinverursachten Frequenzanstieg hat antihumanes IgM.



9: Westernblot von glatten Gefäßmuskelzellen und einem kommerziellen anti-AT<sub>1</sub>-Rezeptorantikörper (A), Immunglobulinen von Patientinnen mit Präeklampsie (B) und Immunglobulinen von normalen Schwangeren (C) [9].



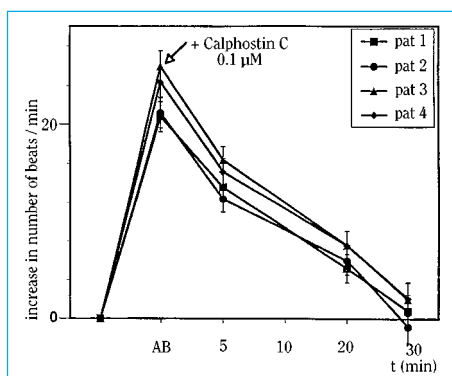
10: Konfokale Mikroskopie von glatten Gefäßmuskelzellen, gefärbt mit Immunglobulinen von Präeklampsiepatientinnen (A) und normalen Schwangeren (B) und kommerziellen anti-AT<sub>1</sub>-Rezeptorantikörpern (C). Die Überlagerung der Bilder zeigt eine Co-Lokalisation der Effekte von Präeklampsie-Immunglobulin und kommerziellen AT<sub>1</sub>-Rezeptorantikörpern [9].

te nur zu einer Farbreaktion mit dem anti-AT<sub>1</sub>-Antikörper (Abb. 10, untere Reihe).

Der Nachweis von identischen Protein-Banden im Westernblot und einer immunzytochemischen Co-Lokalisation von kommerziellen anti-AT<sub>1</sub>-Antikörpern und einer gereinigten IgG-Fraktion von Patientinnen mit hypertensiver Gestose stützt die Aussage unserer funktionellen Tests, daß Patientinnen mit Präeklampsie und HELLP-Syndrom Antikörper gegen AT<sub>1</sub>-Rezeptoren entwickeln. Zur Beantwortung der Frage, ob die durch Angiotensin AT<sub>1</sub>-Antikörper ausgelöste Zellaktivierung über die Protein-kinase C (PKC) vermittelt wird, testeten wir den Einfluß des PKC-Hemmers Calphostin C auf den Anstieg der Pulsationsrate der Kardiomyzyten. Calphostin C führte innerhalb von 30 Minuten zu einer vollständigen Hemmung des Frequenzanstieges (Abb. 11).

## Diskussion

Unsere Befunde sprechen dafür, daß die Immunglobulinfraktion von Patientinnen mit Präeklampsie, einschließlich HELLP-Syndrom, Antikörper enthält, die an den Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptor binden. Diese Antikörper wirken agonistisch, d. h. aktivieren den AT<sub>1</sub>-Rezeptor. Nach der Geburt ist eine rasche Verminderung der Antikörperaktivität zu beobachten. Affinitätschromatographische Reinigung und Inkubation mit anti-humanen IgG- und IgM-Antikörpern belegen, daß es sich um einen IgG-Autoantikörper gegen den AT<sub>1</sub>-Rezeptor handelt. Die Untersuchungen mit Peptidsequenzen der 2. Schleife des Rezeptors zeigen, daß diese die Bindungsstelle für den Antikörper enthält.



**11:** Einfluß der Immunglobuline von 4 Patientinnen mit Präeklampsie auf die spontane Pulsationsrate neonataler Rattenherzmuskelzellen. Die Hemmung der Protein-kinase C durch Calphostin C unterdrückt den frequenzsteigernden Effekt innerhalb von 30 Minuten [9].

Mittels kurzer überlappender Peptide dieser 2. Schleife konnte die Aminosäuresequenz AFHYESQ als Bindungsepitop bestimmt werden. Bei einigen Präeklampsiepatientinnen war zusätzlich ein geringer agonistisch wirksamer Antikörper-effekt gegen den adrenergen  $\alpha_1$ -Rezeptor nachweisbar, ebenso wie bei schwangeren Patientinnen mit einer präexistenten essentiellen Hypertonie. Dieser Befund entsprach Untersuchungsergebnissen, die wir auch bei Patienten mit essentieller Hypertonie erheben konnten [8]. Jedoch waren bei keiner schwangeren Patientin mit unkomplizierter essentieller Hypertonie Antikörper gegen den Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptor nachweisbar. Die mittels des Bioassays der spontan pulsierenden neonatalen Rattenherzmuskelzellen gewonnenen funktionellen Befunde zur Identifizierung von Antikörpern gegen den Angiotensin-AT<sub>1</sub>-Rezeptor wurden durch Westernblot und konfokale Mikroskopie an vaskulären glatten Muskelzellen validiert. Eine über diese AT<sub>1</sub>-Antikörper ausgelöste intrazelluläre Signalübertragung war durch den PKC-Inhibitor Calphostin C vollständig hemmbar, was dafür spricht, daß diese Zellaktivierung über die Protein-kinase C vermittelt wird. Die dargestellten Befunde stützen die Hypothese, daß Autoantikörper gegen Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptoren als zirkulierender Faktor eine Rolle in der Pathogenese der Präeklampsie spielen.

Das Krankheitsbild der Präeklampsie geht mit ausgeprägten Veränderungen im Renin-Angiotensin-System einher, die sich vorwiegend in einer Verminderung der Plasmareninaktivität und einer erhöhten pressorischen Angiotensin II-Sensitivität äußern [10]. Aus letzterer resultiert der Angiotensin-Sensitivitätstest als Prädiktor für die Entwicklung einer Präeklampsie [4]. Eine spezifische Überempfindlichkeit auf Angiotensin II wurde an isolierten Widerstandsgefäßen von Frauen mit Präeklampsie dokumentiert [11]. Im Einklang damit steht die Beobachtung, daß Thrombozyten von Präeklampsiepatientinnen im Vergleich zur normotonen Schwangerschaft mit gesteigerter intrazellulärer Kalziumfreisetzung auf Angiotensin II reagieren [12, 13]. Mit der erhöhten Angiotensin II-Sensitivität gehen fallende Angiotensin II-Plasmakonzentrationen einher, die wiederum für eine verminderte Produktion vasodilatatorisch wirksamer Prostanoiden verantwortlich sein könnten [14]. Insbesondere die Hochregulation von Angiotensin II-Rezeptoren, nachgewiesen mittels Angiotensin II-Bin-



dingstudien an Thrombozyten, könnte die verstärkte Angiotensin II-Blutdruckreaktion bei Präeklampsiepatientinnen erklären [15]. Im fetoplazentaren Kreislauf wurden bei Präeklampsie divergierende Befunde zur mütterlichen Zirkulation erhoben. Normale und erhöhte Spiegel von Komponenten des RAS in Plazenta und fetalen Geweben sind wahrscheinlich Ausdruck der Aktivierung des lokalen RAS infolge der placentaren Minderperfusion [16]. Ebenso steht die verminderte placentare Expression von Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptoren im Gegensatz zu den mütterlichen Befunden, kann aber als sekundäre Herabregulation bei aktiviertem placentarem RAS interpretiert werden [17]. Diese Befunde stehen im Einklang damit, daß eine verminderte placentare Perfusion eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Präeklampsie spielt [5].

Weitere Hinweise dafür, daß das Renin-Angiotensin-System in die Pathogenese der Präeklampsie involviert ist, liefern genetische Untersuchungen. So konnte bei Patientinnen mit Präeklampsie im Vergleich zu normotonen Schwangeren eine Variation auf dem Angiotensinogen-Genlocus nachgewiesen werden, die auch bei Patienten mit einer essentiellen Hypertonie assoziiert zu sein scheint. Es handelt sich dabei um die M235T-Variante des Angiotensinogens, die durch den Einbau von Threonin anstelle von Methionin als 235. Aminosäure im Angiotensinogenmolekül gekennzeichnet ist [18]. Eine vermehrte lokale Expression von Angiotensinogen in uterinen Spiralarterien könnte ebenfalls für die Entwicklung einer Präeklampsie bedeutsam sein. Darauf weisen Untersuchungsbefunde hin, die in dezidualen Spiralarterien von Angiotensinogen T235M-heterozygoten, schwangeren Frauen im 1. Trimenon eine erhöhte Expression der T235-Angiotensinogenvariante ergaben [19]. Daraus ableitbare Störungen physiologischer, schwangerschaftsspezifischer Umbauprozesse der Spiralarterien könnten die Entwicklung einer Atheromatose mit konsekutiver placentarer Hypoxie initiieren. Der Angiotensin II AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Genotyp war ebenfalls Gegenstand molekulargenetischer Untersuchungen zur Genese der Präeklampsie. Bisher fand sich kein Anhalt dafür, daß Polymorphismen des mütterlichen AT<sub>1</sub>-Rezeptors mit einer Präeklampsie assoziiert sind [20]. Möglicherweise spielen aber Polymorphismen des AT<sub>1</sub>-Rezeptors auf der fetalen Seite eine Rolle für die Ätiologie der Präeklampsie [21].

Gegen Rezeptoren gerichtete Autoantikörper sind für verschiedene Krankheitsbilder pathogenetisch bedeutsam, wie z. B. Myasthenia gravis pseudoparalytica oder Morbus Basedow. Diese Antikörper können agonistisch wirken. So stimulieren bei Patienten mit Morbus Basedow Antikörper gegen den TSH-Rezeptor spezifisch die Schilddrüsenaktivität. Bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie wurden Autoantikörper gegen adrenerge  $\beta_1$ -Rezeptoren nachgewiesen [22]. Wir fanden agonistisch wirksame Antikörper gegen  $\alpha_1$ -Rezeptoren bei Patienten mit essentieller Hypertonie [8]. Für die klinische Relevanz von Autoantikörpern gegen vaskuläre Hormonrezeptoren spricht die Beobachtung, daß die Entfernung von Antikörpern gegen  $\beta_1$ -Rezeptoren mittels Immunadsorption bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie zu einer deutlichen Besserung der Herzfunktion führte [23]. Unsere Bindungsstudien sprechen dafür, daß die AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antikörper gegen die 2. extrazelluläre Schleife des Rezeptors gerichtet sind und diesen, in ähnlicher Weise wie sein natürlicher Agonist Angiotensin II, aktivieren.

In der Pathogenese der Präeklampsie werden seit langem auch immunologische Mechanismen postuliert [24]. So sprechen erhöhte Spiegel von TNF  $\alpha$  im Plasma und Fruchtwasser von Patientinnen mit Präeklampsie für eine abnormale Aktivierung des Immunsystems [25]. Im Einklang damit steht der Nachweis von Interleukin-2 in Deziduazellen von Patientinnen mit Präeklampsie [26].

Autoantikörper gegen Phospholipide oder Trophoblastenbestandteile legen nahe, daß Autoimmunmechanismen eine Rolle für die Genese der Präeklampsie spielen können. Wir wissen nicht, welche Mechanismen bei der Präeklampsie zur Bildung von Antikörpern gegen den AT<sub>1</sub>-Rezeptor führen. Der AT<sub>1</sub>-Rezeptor scheint dabei hochreguliert zu sein.

Verschiedene Untersuchungsbefunde sprechen dafür, daß zirkulierende Faktoren bei Präeklampsie zu einer ausgeprägten Aktivierung von Endothelzellen führen, so auch zu einer starken Erhöhung der endothelialen Permeabilität, wie von uns beschrieben [7]. Wahrscheinlich gehören die Autoantikörper gegen AT<sub>1</sub>-Rezeptoren zu diesen zirkulierenden Faktoren, da auch Angiotensin II einen permeabilisierenden Effekt auf Endothelzellen hat [27]. Vorstellbar ist,

daß die mit dem Krankheitsbild verbundene plazentare Hypoperfusion eine veränderte Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Expression bewirkt, die die Bildung von Autoantikörpern stimuliert. Ebenso bleibt die klinische Relevanz von Autoantikörpern gegen Angiotensin AT<sub>1</sub>-Rezeptoren unklar. Denkbar sind davon ableitbare Behandlungsmöglichkeiten zur Verlängerung der Schwangerschaft, insbesondere bei Auftreten der Präeklampsie vor der 30. Schwangerschaftswoche, unter dem Aspekt der Verbesserung der kindlichen Prognose. Vorstellbar sind Strategien zur Entfernung der Autoantikörper, wie Blutauswaschverfahren der Plasmapherese oder spezifischen Immunadsorption [28], die Anwendung von Glukokortikoiden zur Suppression des Antikörpereffektes [29], die Gabe von Immunglobulinen zur Steigerung des Katabolismus der Autoantikörper [30], ebenso wie die Anwendung von niedermolekularem Heparin zur Minderung prokoagulatorischen Effekte der Angiotensin AT<sub>1</sub>-Antikörper [31]. Die sich auf Grund des Wirkmechanismus anbietende Anwendung von AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten ist in der Schwangerschaft streng kontraindiziert, wäre aber bei hypertensiven postpartalen Formen der Präeklampsie und des HELLP-Syndroms ebenfalls in Betracht zu ziehen.

#### LITERATUR

1. Redman CWG. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta* 1991; 12: 301–8.
2. Kingdom JCP, Kaufmann P. Current topic: oxygen and placental villous development: origin of fetal hypoxia. *Placenta* 1997; 18: 613–21.
3. Wallenburg HC, Dekker GA, Makovitz JW, Rotmans N. Effect of low dose aspirin on vascular refractoriness in angiotensin-sensitive primigravid women. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 1169–73.
4. Gant NF, Daley GL, Chand S, Whalley PJ, MacDonald PC. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest* 1973; 52: 2682–9.
5. Roberts J M, Redman CWG. Preeclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet* 1993; 341: 1446–51.
6. Haller H, Ziegler EM, Homuth V, Eichhorn J, Nagy Z, Busjahn A, Vetter K, Luft FC. Endothelial adhesion molecules and leucocyte integrins in preeclamptic patients. *Hypertension* 1997; 29 (part 2): 291–6.
7. Haller H, Hempel A, Homuth V, Mandelkow A, Maasch C, Drab M, Lindschau C, Vetter K, Dudenhausen J, Luft FC. Endothelial cell permeability and protein kinase C in preeclampsia. *Lancet* 1998; 351: 945–9.
8. Luther HP, Homuth V, Wallukat G.  $\alpha$ 1-adrenergic receptor antibodies in patients with primary hypertension. *Hypertension* 1996; 29: 678–82.
9. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jüpner A, Baur E, Nissen E, Vetter K, Neichel D, Dudenhausen JW, Haller H, Luft FC. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT<sub>1</sub> receptor. *J Clin Invest* 1999; 103: 945–52.
10. August P, Lenz P, Ales KL, Druzin MI, Edersheim TG, Hutson JM et al. Longitudinal study of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive pregnant women: Deviations related to the development of superimposed preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1612–21.
11. Aalkjaer C, Johannesen P, Petersen EP, Rasmussen A, Mulvany MJ. Morphology and angiotensin II responsiveness of isolated resistance vessels from patients with pre-eclampsia. *Scand J Clin Lab Invest* 1984; 44 (Suppl. 169): 57–60.
12. Baker PN, Dilby MD, Broughton-Pipkin F. The effect of angiotensin II on platelet intracellular free calcium concentration in human pregnancy. *J Hypertens* 1992; 10: 55–60.
13. Haller H, Oeney T, Hauck U, Distler A, Philipp T. Increased intracellular free calcium and sensitivity to angiotensin II in platelets of preeclamptic women. *Am J Hypertens* 1989; 2: 238–43.
14. Broughton-Pipkin F, Baker PN. Angiotensin II has depressor effects in pregnant and nonpregnant women. *Hypertension* 1997; 30: 1247–52.
15. Baker PN, Broughton-Pipkin F, Symonds EM. Longitudinal study of platelet angiotensin II binding in human pregnancy. *Clin Science* 1992; 82: 377–81.
16. Kalenga MK, Thomas K, deGasparo M, deHertogh R. Determination of renin, angiotensin converting enzyme and angiotensin II levels in human placenta, chorion and amnion from women with pregnancy induced hypertension. *Clin Endocrinol* 1996; 44: 429–33.
17. Knock GA, Sullivan MH, McCarthy A et al. Angiotensin II (AT<sub>1</sub>) vascular binding sites in human placenta from normal-term, preeclamptic and growth retarded pregnancies. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1007–15.
18. Ward K, Hata A, Jeunemaitre X et al. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet* 1993; 4: 59–61.
19. Morgan T, Craven C, Nelson L, Lalouel JM, Ward K. Angiotensinogen T235 expression is elevated in decidual spiral arteries. *J Clin Invest* 1997; 100: 1406–15.
20. Morgan L, Crawshaw S, Baker PN, Edwards R, Broughton-Pipkin F, Kalsheker N. Functional and genetic studies of the angiotensin II type 1 receptor in pre-eclamptic and normotensive pregnant women. *J Hypertens* 1997; 15: 1389–96.
21. Morgan L, Crawshaw S, Baker PN, Brookfield JF, Broughton-Pipkin F, Kalsheker N. Distortion of maternal-fetal angiotensin II type 1 receptor allele transmission in pre-eclampsia. *J Med Genet* 1998; 35: 632–6.
22. Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F, Hjalmarson A, Hoebcke J. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy: characterization of antibodies against the  $\beta$ 1-adrenoceptor with positive chronotropic effect. *Circulation* 1994; 89: 2760–7.
23. Müller J, Wallukat G, Dandel M, Bieda H, Brandes K, Spiegelsberger S, Nissen E, Kunze R, Hetzer R. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2000; 101: 385–91.
24. Taylor RN. Review: immunobiology of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 79–86.
25. Kupfermink MJ, Peaceman AM, Wigton TR, Rehnberg KA, Socol ML. Tumor necrosis factor-al-

pha is elevated in plasma and amniotic fluid of patients with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 1752-7.

26. Hara N, Fujii T, Okai T, Taketani Y. Histochemical demonstration of interleukin-2 in decidual cells of patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1995; 34: 44-51.

27. Haller H, Lindschau C, Luft FC. Role of protein kinase C in intracellular signaling. *Ann NY Acad Sci* 1994; 733: 313-24.

28. Julius U, Patzak A, Schaich M, Ehninger G, Kamin G. Immunogene Thrombozytopenie, Anämie und Leukopenie während der Schwangerschaft. *Dtsch Med Wschr* 1997; 122: 220-4.

29. Magann EF, Kenneth GP, Meydrech EF, Harris RL, Chauhan SP, Martin JN. Postpartum corticosteroids: Accelerated recovery from the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP). *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 1154-8.

30. Yu Z, Lennon VA. Mechanism of intravenous immune globulin therapy in antibody-mediated autoimmune diseases. *N Engl J Med* 1999; 340: 227-8.

31. Dechend R, Homuth V, Wallukat G, Kreuzer J, Park JK, Theuer J, Juepner A, Gulba DC, Mackman N, Haller H, Luft FC. AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients cause vascular cells to express tissue factor. *Circulation* 2000; 101: 2382-7.

Die Abbildungen 5, 6, 7, 9, 10, 11 wurden aus *J Clin Invest* 1999; 103: 945-52 nachgedruckt.

Reproduced with permission of the JOURNAL OF CLINIC INVESTIGATION (via Copyright Clearance Center).



### V. Homuth

Geboren 1940 in Westeregeln, D. Von 1961 bis 1967 Studium der Humanmedizin in Leipzig und Dresden. 1968 Promotion zum Dr. med. an der Medizinischen Akademie Dresden. Von 1967 bis 1972 Facharzt Ausbildung für Innere Medizin am Klinikum Berlin-Buch und an der Klinik des Instituts für Herz-Kreislauf-Forschung der Akademie der Wissenschaften Berlin. 1973-1975 Fachambulanz für Hochdruckkranke des Instituts für Herz-Kreislauf-Forschung Berlin. 1975-1992 Oberarzt der klinischen Abteilung des Instituts für Herz-Kreislauf-Forschung Berlin. 1986 Habilitation mit einem Thema zur arteriellen Hypertonie an der Akademie der Wissenschaften Berlin. Seit 1992 Oberarzt der Abteilung für Hochdruck- und Nierenkranke der Franz-Volhard-Klinik der Charité, Humboldt-Universität Berlin. 1993 Umhabilitation und Verleihung der

Lehrbefugnis für das Fachgebiet Innere Medizin an der Freien Universität Berlin.

**Wissenschaftliche Schwerpunktthemen:** Pharmakotherapie der Hypertonie, hypertensive Erkrankungen in der Schwangerschaft.

#### Korrespondenzadresse:

Priv.-Doz. Dr. med. Volker Homuth  
Franz-Volhard-Klinik am Max-Delbrück-Zentrum,  
Charité, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin  
D-13122 Berlin, Wiltbergstraße 50

# Mitteilungen aus der Redaktion

## Abo-Aktion

Wenn Sie Arzt sind, in Ausbildung zu einem ärztlichen Beruf, oder im Gesundheitsbereich tätig, haben Sie die Möglichkeit, die elektronische Ausgabe dieser Zeitschrift kostenlos zu beziehen.

Die Lieferung umfasst 4–6 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Das e-Journal steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) zur Verfügung und ist auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung kostenloses e-Journal-Abo](#)

## Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

## Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)