

Aus der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Diabetologie und
Endokrinologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität
Magdeburg

***Kohortenstudie zur Prävalenz von Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A-
Rezeptor-Autoantikörpern bei (peripherer) arterieller Verschlusskrankheit***

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät

der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Marie von Schultendorff

aus Stade

Magdeburg 2015

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung

von Schultendorff, Marie:

Kohortenstudie zur Prävalenz von Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A-Rezeptor-Autoantikörpern bei (peripherer) arterieller Verschlusskrankheit

- 2015- 93 Bl., 5 Abb., 3 Gr., 26 Tab., 2 Anh.-

Kurzreferat

Die (periphere) arterielle Verschlusskrankheit tritt mit einer Prävalenz von 12,2% in der westlichen Welt auf. Neben den klassischen Risikofaktoren sind immunologische Faktoren an der Athero- und Arteriosklerosebildung beteiligt. In einer prospektiv angelegten Beobachtungsstudie wurde das Vorliegen von humoralen Faktoren wie Autoantikörper gegen Angiotensin II Typ 1 (AT1R)- und Endothelin-1 Typ A-Rezeptoren (ETAR) in einer Patientenkohorte mit angiographisch gesicherter arterieller Verschlusskrankung untersucht. Etwa 50% der 200 untersuchten Patienten waren positiv für beide Autoantikörper. Es zeigte sich eine starke positive Korrelation für das Auftreten beider Autoantikörper. In der Patientengruppe mit Nachweis beider Autoantikörper lagen geschlechtsspezifische Unterschiede vor: Frauen zeigten höhere Titer der Antikörper gegen AT1R und ETAR als Männer. Das Vorkommen und die Titerhöhe der Autoantikörper korrelierte nicht mit dem Vorliegen klassischer Risikofaktoren (Arterielle Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Rauchen, Diabetes mellitus, Herzinfarkt und/oder Schlaganfall in der Anamnese) der Atherosklerose. Die Arbeit zeigt eine hohe Prävalenz von Autoantikörpern bei arterieller Verschlusskrankheit, die möglicherweise von pathophysiologischer Relevanz sind. Das gehäufte Auftreten beider Autoantikörper weist zudem auf eine weitreichende Immunantwort bei Atherosklerose hin.

Schlüsselwörter: Angiotensin II Typ 1-Rezeptor, Endothelin-1 Typ A-Rezeptor, Autoantikörper, kardiovaskuläres Risikoprofil, (periphere) arterielle Verschlusskrankheit

Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen der folgenden **Publikation** veröffentlicht:

Albert C, von Schultendorff M, Şalaru D, Halloul Z, Dragun D, Heidecke H, Mertens PR.

In arterial occlusive disease autoantibodies against ETAR and AT(1)R correlate with each other but are not associated with classical cardiovascular risk factors.

Vasa. 2014 Mar; 43(2):113-23 doi: 10.1024/0301-1526/a000337

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen des folgenden **Kongressbeitrages** veröffentlicht:

C. Albert, **M. von Plate**, D. Dragun, Z. Halloul, H. Heidecke, P. Mertens

Autoantikörpertiter gegen AT1R und ETAR korrelieren positiv bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit

119. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V. 06.-09.04.2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung.....	8
1.1 (Periphere) arterielle Verschlusskrankheit	8
1.1.1 Epidemiologie	9
1.1.2 Klinik der (p)AVK mit Stadieneinteilung und Untersuchungsbefunden	9
1.1.3 Pathogenese der (peripheren) Atherosklerose	11
1.1.4 Klassische Risikofaktoren der (peripheren) Atherosklerosebildung.....	13
1.1.5 Atypische Risikofaktoren	15
1.1.6 Therapie der (p)AVK	16
1.2 Immunglobuline	17
1.2.1 Pathologische Autoantikörperbildung	18
1.3 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren	19
1.4 Angiotensin	20
1.4.1 Biosynthese von Angiotensin II	20
1.4.2 Wirkung von Angiotensin II.....	21
1.4.3 Der Angiotensin II Typ 1 – Rezeptor und seine physiologische Funktion	22
1.5 Das Endothelinsystem	23
1.5.1 Biosynthese von Endothelinen	23
1.5.2 Vorkommen und Wirkung des Endothelins am Endothelinrezeptor	24
1.6 Pathophysiologie der Rezeptorstimulation am Angiotensin II Typ 1- und Endotelin-1 Typ A-Rezeptor	25
1.7 Fragestellung	27
2. Material und Methoden.....	29
2.1 Aufnahme der Patienten in die Studie	29
2.2 Bestimmung der Autoantikörper gegen ETAR und AT1R.....	29
2.3. Bestimmung weiterer Laborparameter	30
2.4 Statistische Analyse.....	31

3. Ergebnisse	33
3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs	33
3.2 Prävalenz der Rezeptor-Autoantikörper im Patientenkollektiv	34
3.3 Korrelationsanalysen der AT1R- und ETAR-Autoantikörper	37
3.3.1 Korrelation der Autoantikörper mit kardiovaskulären Risikofaktoren	39
3.3.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede	49
4. Diskussion	56
5. Zusammenfassung	61
Literaturverzeichnis	62
Abbildungs-, Graph- und Grafikenverzeichnis	74
Tabellenverzeichnis	75
Danksagungen	77
Ehrenerklärung	78
Lebenslauf	79
Anhang	81

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
ABI	Arm-Bein-Index (engl.: <i>ankle-brachial-index</i>)
AMI	akuter Myokardinfarkt
Ang II	Angiotensin II
ASS	Acetylsalicylsäure
AT1R	Angiotensin II Typ 1-Rezeptor
BMI	engl.: <i>body mass index</i>
bzw.	beziehungsweise
CRP	C-reaktives Protein
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
eGFR	Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
ELISA	engl.: <i>enzyme linked immunosorbent assay</i>
ET-1	Endothelin-1
ETAR	Endothelin-A Rezeptor
ETBR	Endothelin-B Rezeptor
GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor (engl.: <i>G-protein-coupled receptor</i>)
gpt/l	Gigapartikel pro Liter
HBA1c	glykolysiertes Hämoglobin
HDL	Lipoprotein hoher Dichte (engl.: <i>high density lipoprotein</i>)
Ig	Immunglobulin
KHK	koronare Herzerkrankung
LDL	Lipoprotein niederer Dichte (engl.: <i>low density lipoprotein</i>)
m	männlich
mg/l	Milligramm pro Liter
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter

mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
μmol/l	Mikromol pro Liter
mRNA	engl.: <i>messenger RNA</i>
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
(p)AVK	(periphere) arterielle Verschlusskrankheit
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
usw.	und so weiter
vs.	versus
w	weiblich
z.B.	zum Beispiel
25-OH-Vitamin D3	25-Hydroxy-Vitamin D3

1. Einleitung

1.1 (Periphere) arterielle Verschlusskrankheit

Die (periphere) arterielle Verschlusskrankheit ((p)AVK) gehört zu den chronischen arteriellen Gefäßkrankheiten. Bei steigender globaler Prävalenz von derzeit ca. 12,2% der über 60-Jährigen, stellt sie für unser Gesundheitssystem eine erhebliche Kostenbelastung dar [1,2]. Der zugrundeliegende Pathomechanismus ist die Atherosklerose, die sich prinzipiell in allen arteriellen Gefäßen des Körpers manifestieren kann. Sie ist eine Veränderung der Intima und Media der Gefäßwand mit Ansammlungen von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Bindegewebe, Thromben und Kalk. Abzugrenzen von der Atherosklerose ist die Arteriosklerose, die den physiologischen Alterungsprozess der Arterien beschreibt, welcher durch Sklerosierung und Elastizitätsverlust gekennzeichnet ist (z.B. Mediakalzinose). Herzinfarkte und Schlaganfälle gehören zu den Manifestationen einer unzureichenden Blut- und Sauerstoffversorgung als Folge von akuten und/oder chronischen Gefäßveränderungen. Als Risikofaktoren gelten unter anderem ein langjähriger Diabetes mellitus Typ 2, Tabakkonsum, arterielle Hypertonie und Fettstoffwechselstörungen [3]. Neben den großen arteriellen Gefäßen wie Aorta und Beckengefäßen sind besonders auch kleinere, die Haut und Muskeln versorgende Gefäße, befallen. Es resultieren segmentale oder diffuse Stenosen beziehungsweise Okklusionen der Becken- und beinversorgenden Gefäße, sowie des infrarenalen Abschnittes der Aorta. Betroffene Patienten präsentieren sich mit intermittierender Claudicatio, die sich durch bewegungsabhängige, krampfartige Schmerzen in den unteren Extremitäten äußert, welche in Ruhe verblasen. In fortgeschrittenen Stadien kann sie zum Gewebeuntergang in Form einer Gangrän führen, die eine Amputation der betroffenen Gliedmaßen erfordert. Eine schnelle und kostengünstige Diagnose der (p)AVK kann über eine nicht-invasive Screeningmethode, die Bestimmung des Arm-Bein-Indexes (ABI), erfolgen. Dies ist der Quotient aus dem am Unterschenkel und am Oberschenkel gemessenen systolischen Blutdruck, welcher im Liegen mit Hilfe einer Blutdruckmanschette ermittelt wird. Ein Wert zwischen 0,9 und 1,2 gilt als normal. Beim Vorliegen einer Mediasklerose (s.o.) ist die Aussagekraft des ABI aufgrund der schlechten Komprimierbarkeit der Arterienwand allerdings eingeschränkt. In diesem Fall ergeben sich oft falsch hohe Werte. Der ABI ist gleichzeitig ein starker Prognosefaktor für die (kardiovaskuläre) Mortalität. Die 10-Jahres-Mortalität

bei Männern mit einem $ABI \leq 0,9$ liegt bei 18,7% gegenüber 4,4% bei gesunden Patienten. Bei Frauen liegt die Mortalität bei 12,6% gegenüber 4,1% im gesunden Zustand[4].

Trotz der steigenden Prävalenz, der Assoziation mit schlechter Lebensqualität, hoher Mortalität und Komorbidität mit anderen vaskulären Erkrankungen wie Schlaganfall und Herzinfarkt bleibt die (p)AVK in weiten Teilen unterdiagnostiziert und wird nicht ausreichend behandelt [5–7]. In Deutschland ist die Zahl der (p)AVK-Erkrankungen zwischen den Jahren 2005 und 2009 um 20,7% gestiegen [8]. Eine italienische Studie zeigt, dass in kardialen Rehabilitationszentren zwar in 83% der Fälle eine arterielle Hypertonie zur Sekundärprävention von kardiovaskulären Erkrankungen medikamentös therapiert wurde, aber nur in weniger als 4% der Fälle eine leitliniengerechte Therapie der (p)AVK vorgenommen wurde [7]. Ein Grund hierfür ist die hohe Rate (ca. 40%) an asymptomatischen (p)AVK-Patienten und die niedrige Rate (ca. 10%) an Patienten, die tatsächlich die krankheitstypische Claudicatio intermittens präsentieren [9,10].

1.1.1 Epidemiologie

Die Prävalenz der (p)AVK steigt mit zunehmendem Alter an [2,11]. Sie liegt bei den 60- bis 69-Jährigen bei 7% und in der Altersgruppe der 70- bis 79-Jährigen bei 12,5%, bei den über 80-Jährigen liegt sie bei 23,2% [2]. Während in älteren Querschnittsstudien überwiegend höhere Prävalenzen bei Männern postuliert wurden, zeigen einige neuere Querschnittsstudien eine Geschlechterangleichung bis hin zur Dominanz der weiblichen Prävalenz (10% gegenüber 7,4% bei Männern) [12,13]. In Deutschland leidet etwa jeder Fünfte (21%) über 65 Jahren an einer (p)AVK [14].

1.1.2 Klinik der (p)AVK mit Stadieneinteilung und Untersuchungsbefunden

Um das Ausmaß der klinischen Symptome der (p)AVK zu quantifizieren, bedient man sich der Stadieneinteilung nach René Fontaine. Der französische Chirurg etablierte Mitte des 20. Jahrhunderts die im europäischen Raum verbreitete Einteilung in vier Stadien (Tabelle 1).

Tabelle 1: Stadien der (p)AVK nach René Fontaine

Stadium	Klinik
Stadium 1	Angiographisch nachweisbare Gefäßveränderungen ohne klinische Symptome
Stadium 2a	Belastungsschmerz bei einer Gehstrecke > 250m
Stadium 2b	Belastungsschmerz bei einer Gehstrecke < 250m
Stadium 3	Schmerzen auch in Ruhe
Stadium 4	Gewebeschäden wie Ulcera und Nekrosen

Klinisch zeigt sich ein abgeschwächter bis fehlender Puls der Femoral-, Popliteal-, Fibular- oder Tibialarterien in Ruhe. Bei Belastung treten Muskelschmerzen in der Gesäß-/ Oberschenkel- bzw. Unterschenkelmuskulatur auf. Fortgeschrittene Stadien können durch schlecht heilende Wunden und Gewebsnekrosen auffallen. Bei wiederkehrenden Entzündungen und fortgeschrittener Nekrose ist häufig eine Amputation der betroffenen Gliedmaßen erforderlich. In Deutschland liegt die Amputationsrate bei (p)AVK-Patienten zwischen 3,5-5,11% [8].

An der unteren Extremität können eine oder mehrere „Etagen“ von der Atherosklerose betroffen sein. Entsprechend der Anatomie unterscheidet man zwischen Becken-, Oberschenkel- und peripherem Typ. Um festzustellen, auf welcher Höhe das Gefäß stenosierte bzw. okkludiert ist, werden die Pulse von zentral nach peripher getastet. Im Seitenvergleich kann so eine orientierende Aussage über den Pulsstatus gemacht werden.

Neben der ABI-Messung kann die Duplex-Untersuchung der Diagnosefindung dienen. Hierbei sendet ein Schallkopf Ultraschallwellen einer bestimmten Frequenz aus, die von den Blutkörperchen reflektiert werden. Durch Gefäßverengungen kommt es zu einer Geschwindigkeitszunahme des Blutes, welche sich in Frequenzänderungen äußert, die farblich oder akustisch angezeigt werden. Zusätzlich lassen sich der Verlauf und die Beschaffenheit der Gefäße beurteilen.

Des Weiteren kommen zur Diagnosefindung verschiedene Angiographieformen in Frage, wie die Anwendung der digitalen Subtraktionsangiographie (DSA), der Computertomographie (CT) oder der Magnetresonanztomographie (MRT). Als Goldstandard gilt die DSA. Hier werden mehrere zeitlich aufeinanderfolgende Bilder

erstellt, während ein Kontrastmittel über die Femoralarterie gespritzt wird. Die Bilder ohne Kontrastmittel werden von den Bildern mit Kontrastmittel „subtrahiert“. Dabei steht das Bild dem Untersucher in Echtzeit zur Verfügung. Zu den alternativen Verfahren zählen das Angio-CT und das Angio-MRT.

1.1.3 Pathogenese der (peripheren) Atherosklerose

Zur Pathogenese der Atherosklerose existieren verschiedene Theorien, wobei hier die Lipid- und die *response-to-injury*-Theorie vorgestellt werden soll. Die Lipidtheorie sieht eine erhöhte Cholesterinkonzentration als Initiator der Gefäßwandschädigung an. Pathophysiologisch kommt es zu einer Infiltration und Perfusion von Plasmaproteinen und -lipiden in die Intima und dadurch zu einer Akkumulation dieser in der Gefäßwand. Eine zentrale Rolle übernimmt dabei eine hohe Plasmakonzentration von Gesamtcholesterol und besonders von dem *low density lipoprotein* (LDL). Dies ist ein Apolipoprotein B enthaltendes Lipoproteine mit besonders niedrigem Lipidanteil. Es unterscheidet sich von den anderen Cholesterinen wie dem *high density lipoprotein* (HDL), welches eine hohe Dichte besitzt und überschüssige Fette binden und zur Leber transportieren kann. HDL gilt deswegen als atheroprotektiv [15]. Jüngst wurde gezeigt, dass ein niedriger HDL-Cholesterinwert positiv mit vermehrter Entzündung, Endothelzellaktivierung und oxidativem Stress korreliert [16]. Der Cholesterinhaushalt, also die Synthese, Aufnahme und Ausscheidung (Cholesterin-Homöostase) ist streng reguliert [17]. Gerät dieser aus dem Gleichgewicht, wird die Entstehung atherosklerotischer Plaques begünstigt.

Die in den 70er Jahren von R. Ross postulierte und heute am meisten anerkannte *response-to-injury*-Theorie beschreibt als initialen Mechanismus einen Endothelzellschaden verschiedenster Ätiologie [18]. Beide Theorien überschneiden sich in der Anerkennung der endothelialen Dysfunktion als zentralen, initialen Pathomechanismus, aus dem sich über die Schaumzell-Läsion eine atherosklerotische Plaque und schließlich eine komplexe atherosklerotische Läsion entwickelt.

Die endotheliale Dysfunktion kann durch mechanisch wirkende Kräfte, wie Scherkräfte und Verwirbelungen an Verzweigungsstellen, Systemerkrankungen wie arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie und erhöhte Blutzuckerwerte bei Diabetes mellitus verstärkt

werden. Das LDL kann in die Gefäßwand eintreten und lagert sich in der subendothelialen Schicht der Arterien an [19]. Dadurch werden Entzündungsprozesse in Gang gesetzt, über die am Endothel Chemokine und Zytokine ausgeschüttet werden [20]. Das LDL durchläuft komplexe, durch Enzyme gesteuerte Oxidationsprozesse. Oxidiertes LDL lockt vermehrt Monozyten aus dem Knochenmark an und fördert die Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen [21,22]. Die Monozyten verändern ihren Phänotyp zu aktivierten Makrophagen, welche die Lipoproteine über sogenannte *Scavenger-Rezeptoren* phagozytieren. Bei übersättigten Cholesterinspiegeln und anhaltender Endozytose bilden sich aus den Makrophagen sogenannte Schaumzellen (engl.: *foam cells*), die sich in der Intima ansammeln [23]. Sie sind ein typisches Korrelat der frühen atherosklerotischen Läsion.

Neben den Makrophagen sammeln sich in der Intima auch Leukozyten an, deren zelluläre und humorale Immunantwort zur weiteren Verstärkung der Gefäßprozesse beitragen. An der Endothelzelloberfläche werden Adhäsionsmoleküle wie Selektine, Integrine und andere Proteine wie ICAM (engl.: *intracellular adhesion molecule*), VCAM (engl.: *vascular cell adhesion molecule*), PECAM (engl.: *platelet endothelial cell adhesion molecule*) exprimiert, an denen mit dem Blut vorbeiströmende Leukozyten anheften können [24]. Mediatoren locken die Entzündungszellen weiter in Richtung der Tunica intima, die unterhalb der Endothelzellschicht liegt.

Von der mittleren Gefäßschicht, der Tunica media, ausgehend wandern glatte Muskelzellen in die Intima ein und sezernieren extrazelluläre Matrixmoleküle wie Kollagene und Elastin. Die Matrixmoleküle bilden eine fibröse Kappe, die sich auf die Ansammlung von Schaumzellen legt [18,22]. In fortgeschrittenen Stadien verfestigt sich dieser Lipidnidus durch Nekrose und Kalzifizierung (Lipidkern). Die lokale Ansammlung von Zellen verursacht eine zunehmende Einengung des Gefäßlumens, welche zur (p)AVK-typischen Ischämie führen kann.

Bei einer Ablösung solcher Plaques entstehen Thromben, die kardiovaskuläre Ereignisse wie einen Herzinfarkt, Schlaganfall oder periphere Extremitätenischämie verursachen können. Abbildung 1 zeigt schematisch die Entstehung der Atherosklerose sowie die Thrombusformation.

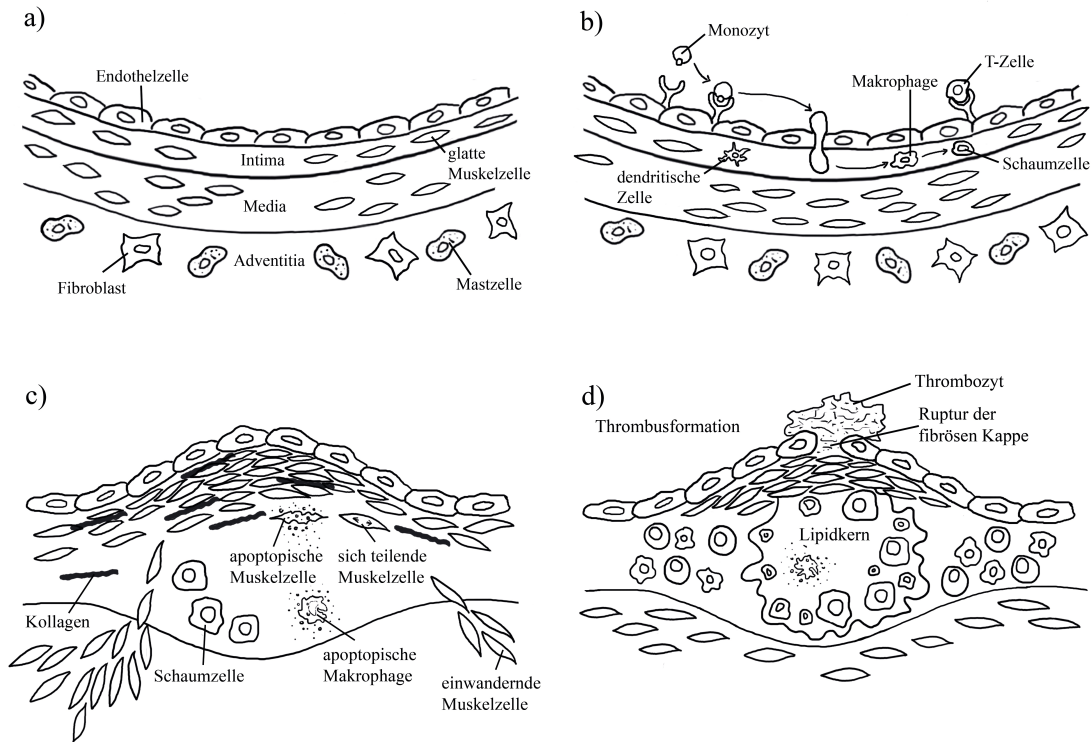


Abb. 1: Entstehung der Atherosklerose und Thrombusformation [25]

1.1.4 Klassische Risikofaktoren der (peripheren) Atherosklerosebildung

Die vier Hauptrisikofaktoren für eine (p)AVK sind schon genannt worden: Tabakkonsum, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Fettstoffwechselstörungen. Ihr Vorliegen korreliert positiv und unabhängig voneinander mit dem Auftreten einer (p)AVK [26].

Ein weiterer, aktuell viel diskutierter Risikofaktor für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen ist die Hyperurikämie. Studien belegen, dass Harnsäure oxidativen Stress, endotheliale Dysfunktion, Inflammation und Vasokonstriktion begünstigt [27]. Wie jüngst belegt werden konnte, ist die Hyperurikämie an der Entwicklung eines metabolischen Syndroms beteiligt [28]. Diese klassischen Risikofaktoren positiv zu beeinflussen stellt einen zentralen primär- und sekundärpräventiven Ansatz hinsichtlich der Verringerung der Prävalenz von (p)AVK dar [29].

Rauchen

Das Rauchen hat den größten Einfluss auf die Krankheitsentwicklung und kann selbst 20 Jahre nach Aufgabe des Tabakkonsums noch die Entwicklung einer (p)AVK begünstigen [26]. Das Amputationsrisiko ist bei Rauchern um das 11-fache erhöht [30]. In der japanischen Nagahama Studie konnte jüngst nachgewiesen werden, dass die durch Nikotinkonsum beeinträchtigte Lungenfunktion, die sich bei Rauchern durch einen eingeschränkten Luftstrom in den Lungen äußert, arterielle Steifheit begünstigt [31].

Diabetes mellitus

Aufgrund metabolischer Veränderungen ist der Diabetes mellitus ein starker und unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung einer Atherosklerose. Die diabetische Mikro- und Makroangiopathie kann prinzipiell alle Gefäße im Körper beeinträchtigen und ist so an kardiovaskulären Erkrankungen beteiligt. Diabetiker haben ein bis zu zweifach erhöhtes Risiko eine (p)AVK zu entwickeln gegenüber Nicht-Diabetikern [32,33]. Groß angelegte Studien unterstreichen den Zusammenhang zwischen erhöhten Blutglukosewerten und kardiovaskulären Erkrankungen: Die ACCORD-Studie mit über 10.000 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 konnte überzeugend nachweisen, dass unter intensiver Diabetes-Therapie weniger Herzinfarkte entstehen [34]. Weiterhin konnte belegt werden, dass ein schlecht eingestellter Wert für das glykolysierte Hämoglobin (HbA1C) mit einem gesteigerten Amputationsrisiko positiv korreliert [35,36].

Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie kann eine Ursache und Folge von kardiovaskulären Erkrankungen sein. In zahlreichen groß angelegten Studien wurde eine positive Korrelation zwischen der Höhe des arteriellen Blutdruckes und der Entwicklung der Gefäßerkrankung nachgewiesen [37,38]. Eine aktuelle Studie bestätigte, dass die Hypertonie als Teil des metabolischen Syndroms als unabhängiger Risikofaktor für die (p)AVK-Entwicklung zu zählen ist [39]. Es wird diskutiert, ob die arterielle Hypertension die Atherosklerose durch entzündliche Mechanismen fördert und verstärkt, die oxidativen Stress durch vasoaktive Substanzen wie Angiotensin II aktivieren, welche wiederum zu der beschriebenen endothelialen Dysfunktion führen [40]. Die englische UKPDS-Studie zeigte, dass eine strikte Kontrolle des Blutdruckes (mittlerer Blutdruck von 144/82 mm

Hg) gegenüber weniger strikten Werten (mittlerer Blutdruck von 154/87 mm Hg) das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen bei Diabetikern um 24% senken kann [41].

Fettstoffwechselstörungen

Wie die Hypertonie gehört die Dyslipoproteinämie zu den eindeutig mit Atherosklerosebildung assoziierten pathologischen Veränderungen [42]. Eine effektive Senkung des LDL-Cholesterins im Blut ist eine der wirksamsten Mechanismen, um das Risiko der Atherosklerosebildung zu senken. Eine andauernd erhöhte Lipoproteinkonzentration im Blut beschleunigt die initiale Aufnahme von Lipoproteinen in die Gefäßwand, einer der initialen Prozesse bei der Formierung einer atherosklerotischen Plaque. Weiterhin gibt es angeborene Fettstoffwechselstörungen. Die familiäre Hypercholesterinämie beispielsweise ist eine genetische Stoffwechselerkrankung, die sich durch erhöhte Plasmacholesterinkonzentration, besonders des LDL-Cholesterins, äußert. Bleibt sie unbehandelt, kann sie zu verfrühtem Tod durch Herzinfarkt oder Schlaganfall führen. Auch eine erhöhte Plasmakonzentration des Lipoprotein (a), einem dem LDL-Cholesterin ähnelnden Lipoprotein, dessen Konzentration im Blut genetisch determiniert ist, birgt ein hohes kardiovaskuläres Risiko.

Weitere unveränderbare Risikofaktoren wie genetische Veranlagung, Alter und männliches Geschlecht sind ebenfalls positiv mit der Arterio- und Atherosklerosebildung assoziiert.

1.1.5 Atypische Risikofaktoren

Der Einfluss von „atypischen“ Risikofaktoren auf die Atherosklerose-Entstehung gewinnt zunehmend an Interesse und wird teils kontrovers diskutiert. Atherosklerose wird heute als Manifestation einer systemischen Entzündung angesehen. So trägt das Immunsystems vor allem durch die einwandernden Leukozyten und insbesondere Makrophagen entscheidend zur Entstehung und Aggravierung der Entzündungsprozesse im Gefäßinneren bei [43].

Die pro-inflammatorische Rolle der T-Zellen ist hinreichend belegt [44]. Vermittelt durch den T-Zellsubtyp Th-1 wird die Immunantwort über verschiedene Zytokine und Interleukine, wie CCL5/RANTES, MCP-1 und Interferon- γ , verstärkt [45]. Über die

Rolle der B-Zellen gibt es sehr gegensätzliche Erkenntnisse: Zahlreiche Arbeiten sprechen den B-Zellen und den von ihnen produzierten Immunglobulinen eine atheroprotektive Rolle zu [46,47]. Dabei könnten Autoantikörper gegen oxidiertes LDL-Cholesterin, welches als Antigen eine Immunreaktion auslöst, eine Bedeutung haben. Neuere Studien postulieren dagegen einen pro-atherosklerotischen Einfluss der B-Zellen. In Mausmodellen konnte überzeugend gezeigt werden, dass B-Zellen unabhängig von anderen Zellreihen eine Atheroskleroseprogression vermitteln [48,49]. Ihre Entfernung durch einen CD-20-spezifischen Antikörper bewirkte eine deutliche Reduktion der Plaquentwicklung.

Bereits in den 70er Jahren wurde herausgefunden, dass das Vorliegen von systemischen Autoimmunerkrankungen, wie beispielsweise des Lupus erythematodes, ein Risikofaktor für das vermehrte Auftreten der koronaren Herzerkrankung sein kann [50]. Eine aktuelle Studie mit 216 von systemischem Lupus erythematodes betroffenen Patienten zeigt, dass diese häufig einen niedrigen ABI aufweisen [51]. Auch Patienten mit rheumatoider Arthritis zeigen vermehrt arteriosklerotische Plaques in den Karotiden und den Femoralarterien [52].

1.1.6 Therapie der (p)AVK

Bei der Behandlung der (p)AVK unterscheidet man zwei Therapiesäulen: die symptomatische und die kausale Therapie. Bei der kausalen Therapie steht vor allem die Ausschaltung der beeinflussbaren klassischen Risikofaktoren im Vordergrund. Dazu gehören das Aufgeben des Rauchens, die optimale Einstellung einer Hyperlipoproteinämie, eines Diabetes mellitus oder einer Hypertonie, die Gewichtsreduktion, körperliches Training und eine ausgewogene Ernährung [3,29]. Die symptomatische Therapie der (p)AVK gliedert sich einerseits in einen medikamentös-konservativen Ansatz und andererseits in die operative oder interventionelle Revaskularisationsbehandlung. Die invasive DSA, über die in vielen Fällen gleichzeitig eine Diagnose über das Ausmaß der Gefäßveränderungen erfolgt und therapeutisch interveniert werden kann, ist das Mittel der Wahl bei geplanter Revaskularisation [53].

1.2 Immunglobuline

Immunglobuline sind Teil des adaptiven Immunsystems, die im Rahmen einer Immunantwort von den B-Plasma-Lymphozyten sezerniert werden. Sie zirkulieren im Blut und anderen Körperflüssigkeiten und binden spezifisch an Antigene, für das die produzierende B-Zelle im Laufe ihrer Entwicklung selektioniert wurde. Diese Bindung bewirkt die Inaktivierung von Fremdkörpern wie Bakterien oder Viren. Zusammen mit dem Komplementsystem bilden Antikörper den humoralen Zweig des Immunsystems. Man unterteilt sie in folgende Subklassen: Immunglobulin (Ig) A, E, G und M. Im Blut findet man vorwiegend die IgG-Untergruppe. Ihr Aufbau entspricht einem über Disulfidbrücken verbundenen Tetramer aus zwei Polypeptidketten mit zwei jeweils identischen schweren (engl.: *heavy*, H) und zwei leichten (engl.: *light*, L) Ketten. Die Y-förmig angeordnete Struktur trägt an der zweischenkligen Seite das Fragment für den Antigenkontakt, das Fab (engl.: *antigen binding fragment*). Es wird auch variable Domäne genannt und kann über die sogenannte V(D)J- Rekombination (Antikörpergene werden durch beliebige Kombination von Gensegmenten zusammengesetzt) eine außergewöhnliche Variabilität erreichen. Ein Molekül IgG kann hier beispielsweise jeweils zwei identische Antigene binden. Die Seite mit dem einfachen, stabförmigen Schenkel ist das Fc-Fragment (engl.: *crystallisable fragment*) und die konstante Region. Sie ermöglicht die Bindung auf verschiedenen Zelloberflächen, wie B- und T-Lymphozyten und die Vermittlung wichtiger Effektorfunktionen (Aktivierung des Komplementsystems). Siehe Abbildung 2.

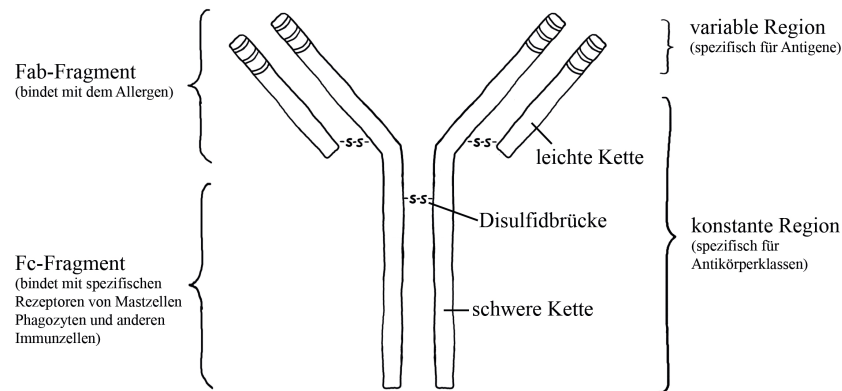


Abb.2: Schematische Abbildung der Domänen eines IgG-Antikörpers

1.2.1 Pathologische Autoantikörperbildung

Die Antikörperproduktion ist Teil der Antwort des Immunsystems auf Fremdartigene und ist sehr spezifisch. Die Unterscheidung zwischen körpereigenen und körperfremden ist dabei essentiell. Die ursprünglich von Burnet postulierte Theorie der klonalen Selektion [54] besagt, dass alle Lymphozyten einer gemeinsamen Mutterzelle entspringen und während ihres Entwicklungsprozesses darauf ausgerichtet werden, nur ein Antigen spezifisch zu binden. Autoreaktive Zellen werden noch im Knochenmark eliminiert [55,56]. In einem gewissen Umfang wird die Bildung von Autoantikörpern geduldet, um physiologische Prozesse wie die Zellerneuerung zu erhalten [57–59]. Wenn dieser Selbstduldungsmechanismus nicht regelrecht funktioniert oder ein körpereigenes Molekül dem eigentlichen Antigen zu sehr ähnelt (molekulares Mimikry), kann dies eine Ursache für die Ausbildung einer Autoreaktivität sein. Als weitere Auslöser werden heute Umgebungsfaktoren, infektiöse Agenzien (zum Beispiel (z.B.) Viren, Bakterien, Würmer) und nicht-infektiöse Agentien (z.B. Medikamente) diskutiert [60].

Autoimmunerkrankungen kann man in organspezifische Erkrankungen und Systemerkrankungen einteilen. Bei den organspezifischen Erkrankungen liegt das Zielantigen in einem Organ oder Gewebe. Ein Beispiel ist die Hashimoto-Thyreoiditis. Sie zählt zu den häufigsten Autoimmunerkrankungen und ist durch eine Zerstörung des

Schilddrüsengewebes durch autoreaktive T-Lymphozyten gekennzeichnet. Bei erkrankten Personen finden sich in 95% der Fälle die Antikörper gegen Thyreoperoxidase [61]. Bei den systemischen Autoimmunerkrankungen können sich die pathologischen Prozesse hingegen im ganzen Körper abspielen. Hier formiert sich ein Antigen-Antikörperkomplex, der sich als Reaktion auf ubiquitär vorkommende zirkulierende Antigene gebildet hat. Hierzu zählen z.B. die Systemische Sklerose und der Lupus erythematoses [62]. Bei diesen und anderen Kollagenosen sowie rheumatischen Erkrankungen, die mit der Zerstörung von Zellen einhergehen, werden antinukleäre Antikörper (ANA) bestimmt. Sie bilden sich gegen freiwerdende Kernelemente im Blut und können bei der Diagnosestellung und Verlaufsbeurteilung helfen. Zu ihnen gehören beispielsweise die für die Lupuserkrankung typischen Anti-ds-DNA-Antikörper, die bei europäischen Patienten in etwa 78% positiv sind [63].

Autoantikörper können sich auch gegen tumoröse Antigene richten. So können sie als Biomarker bei Krebserkrankungen dienen [64].

Weiterhin gibt es Erkrankungen mit pathologischen Autoantikörpern, die am Rezeptor eine stimulierende Eigenschaft haben und die Wirkung des eigentlichen Liganden imitieren oder sogar verstärken können (siehe Kapitel 1.6).

In einer dänischen Studie wurde gezeigt, dass von allen in die Studie einbezogenen 100-Jährigen in Dänemark lebenden Personen 79,3% positiv für mindestens einen organspezifischen oder organunspezifischen Antikörper waren [65].

1.3 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (engl.: *G protein-coupled receptor*, GPCR) umfassen mit etwa 2.000 Typen die größte Gruppe membranständiger Rezeptoren bei Eukaryonten. Über ihre Signaltransduktionswege werden verschiedenste extrazelluläre Signale von beispielsweise Proteinen, Hormonen und Licht in das Zellinnere geleitet um dort weitere Reaktionskaskaden auszulösen. Sie sind maßgeblich an der Vermittlung von Sinneseindrücken wie Sehen, Schmecken und Riechen beteiligt [66,67].

Alle GPCR besitzen 7 transmembranäre Helixstrukturen. Sie sind durch jeweils drei extrazellulär und drei intrazellulär gelegene, sich abwechselnde Schleifen miteinander

verbunden. Extrazellulär befindet sich ein N-Terminus, in das Zellinnere ragt ein kurzer C-Terminus. An der Oberfläche, bzw. in der Zellmembran liegend befindet sich die Bindungsstelle für den Liganden. An der Unterseite ist das G-Protein angelagert, welches nach Ligandenbindung weitere Reaktionsmechanismen im Zellinneren in Gang setzt [68]. Abbildung 3 veranschaulicht schematisch den Aufbau eines GPCR.

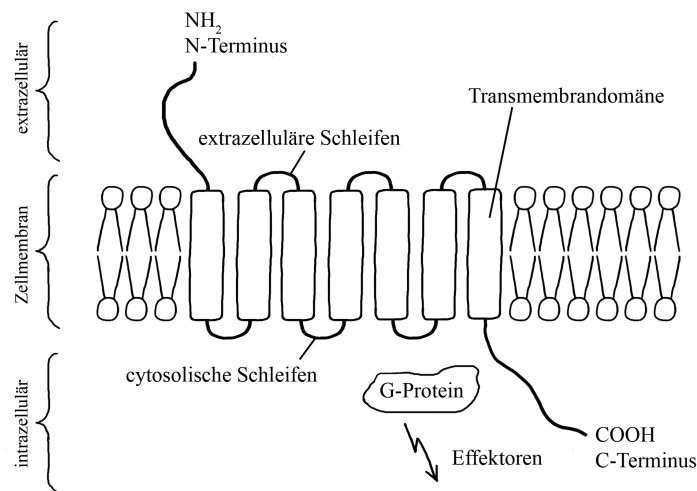


Abb. 3: Schematische Darstellung der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren [68]

1.4 Angiotensin

Das Peptidhormon Angiotensin wurde 1940 erstmalig unter dem Namen Hypertensin als gefäßverengende Substanz beschrieben [69,70]. Als Teil des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) ist es wesentlich an der Regulierung des Wasser- und Salzhaushaltes beteiligt und übernimmt eine zentrale Rolle bei der Regulation kardiovaskulärer/hämodynamischer renaler und endokriner Prozesse.

1.4.1 Biosynthese von Angiotensin II

Das RAAS beschreibt die physiologische Reaktionskaskade der Angiotensinbildung. Sie beginnt mit der Freisetzung des Vorläuferproteins Angiotensinogen aus der Leber. Dessen Aktivierung erfolgt durch das Glykoprotein Renin. Renin wird im juxtaglomerulären Apparat der Niere als Resultat eines länger andauernden systemischen

Blutdruckabfalls, ausgeschüttet. Es katalysiert als Protease im Blut die Abspaltung von Angiotensin I von dem Angiotensinogenmolekül. In den Gefäßendothelzellen befindet sich das *angiotensinogen converting enzyme* (ACE), welches in einem weiteren Abspaltungsprozess das biologisch aktive Angiotensin II (Ang II) bildet (siehe Abb. 4)

Neben dem systemischen RAAS gibt es auch Mechanismen der lokalen Ang II-Produktion (parakrine und autokrine Sekretion) [71]. In diesem Fall wird die gefäßverengende Wirkung von Ang II durch ortsständige Zellen in Organen wie Herz, Gehirn, Nieren und Plazenta sowie Endothelzellen bewirkt. Sie sezernieren das Oktapeptid direkt in ihre Umgebung [72,73].

1.4.2 Wirkung von Angiotensin II

Die zentrale Rolle von Ang II ist die über die Angiotensin II Typ 1-Rezeptoren (AT1R) vermittelte Gefäßkonstriktion und damit die Blutdruckkontrolle. Ang II ist außerdem ein Vermittler von Durst und Salzappetit [74]. Wichtige Zielgewebe sind Niere und Gehirn. In der Niere wird die glomeruläre Filtrationsrate über die Kontraktion der efferenten Gefäße konstant gehalten. In der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde entsteht als Endprodukt des RAAS der Botenstoff Aldosteron. Er vermittelt eine gesteigerte Wasser- und Natriumrückresorption am distalen Tubulus der Niere. In der Neurohypophyse stimuliert Ang II die Freisetzung von Vasopressin, welches die systemische Vasokonstriktion und die renale Wasserrückresorption unterstützt.

Neben der Wirkung am Gefäßsystem sind für Angiotensin Proliferationsprozesse, zum Beispiel für Mesangialzellen und glatte Gefäßmuskelzellen beschrieben [75,76].

Außer Ang II existieren noch andere Angiotensin-Metabolite wie Angiotensin (1-7), Angiotensin III und Angiotensin IV [71,77]. Trotz der vergleichbaren biologischen Aktivitäten sind die Rezeptoraffinität und die resultierende Wirkung am AT1R allerdings geringer [71].

1.4.3 Der Angiotensin II Typ 1 – Rezeptor und seine physiologische Funktion

Die Wirkung von Ang II wird über zwei Rezeptoren, den Angiotensin II Typ 1- (AT1R) und den Angiotensin II Typ 2-Rezeptor (AT2R) vermittelt [78]. Die Rezeptoren gehören der Familie der oben beschriebenen GPCR an.

Der Großteil der kardiovaskulären Effekte des Ang II wird über den AT1R vermittelt. Der humane AT1R wurde erstmalig 1992 kloniert [79]. Die Wirkung über den AT2R ist der des AT1R im Sinne der Vermittlung von Wachstumsreizen inhibitorisch entgegengesetzt [77,80]. Die Abbildung 4 zeigt eine vereinfachte Übersicht der Angiotensinbildung und seine Wirkung am AT1R.

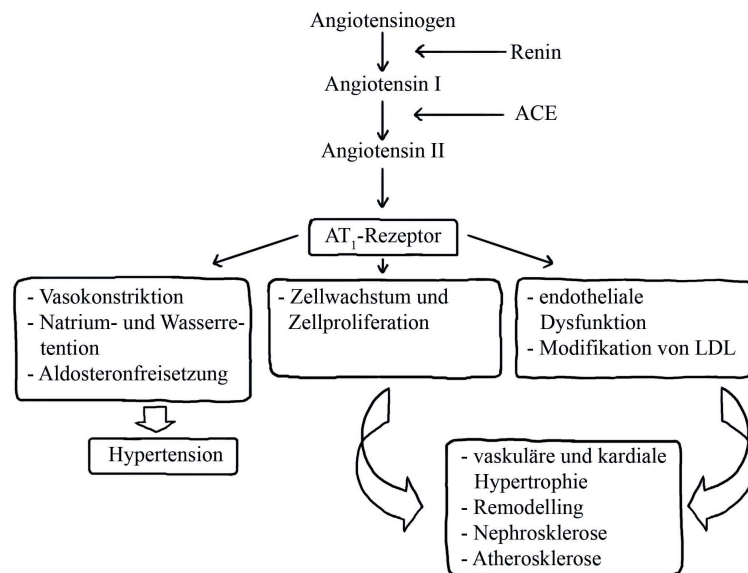


Abb. 4: Bildung von Ang II und seine Wirkung am AT1R [81]

Zirkulierendes Ang II bindet als Agonist mit hoher Affinität an den GPCR und löst dort verschiedene Signaltransduktionsmechanismen aus, die zeitlich versetzt ablaufen. Die Bindung bewirkt eine Konformationsänderung der Rezeptoroberfläche, so dass das darunterliegende G-Protein aktiviert werden kann [82]. Durch die Aktivierung der Phospholipase C und einer intrazellulären Calciumerhöhung, sowie das Ablaufen von komplexen Signalkaskaden wird die Gefäßkontraktion und Zellproliferation vermittelt. Überdies hat man herausgefunden, dass Ang II über den AT1R auch die Bildung von

atherosklerotischer Plaques induzieren kann [83,84]. Dieser Effekt scheint über die Oxidierung von LDL-Cholesterin vermittelt zu werden.

1.5 Das Endothelinsystem

Endotheline zählen zu den stärksten Vasokonstriktoren im menschlichen Organismus. Sie gehören zur Gruppe der Peptidhormone, die neben ihrer Wirkung auf umgebendes glattes Muskelzell- und Bindegewebe auch multiple kardiovaskuläre, neurovaskuläre, sowie mitogene Effekte haben. Sie sind weiterhin an pulmonalen und renalen sowie neurophysiologischen Mechanismen beteiligt. Inoue et al. beschrieben das Vorliegen von 3 Isoformen bei Säugetieren: Endothelin-1 (ET-1), Endothelin-2 (ET-2) und Endothelin-3 (ET-3) [85], wobei das ET-1 die bedeutendste Isoform darstellt. Es besteht aus 21 Aminosäuren und ist durch eine Disulfidbrücke verbunden. ET-1 spielt eine Rolle bei der Entwicklung von arterieller Hypertension und Atherosklerose [86]. Die dabei grundlegenden Mechanismen sind die Senkung des HDL-Cholesterin und die Erhöhung des oxidativen Stress, entzündlicher Zellinfiltrationen und der Aktivierung der Matrix-Metalloproteinase-2 [87].

1.5.1 Biosynthese von Endothelinen

Über das primäre Transkriptionsprodukt Präproendothelin-*messenger* RNA (Präproendothelin mRNA) wird das Proendothelin-1 (*big* Endothelin-1) gebildet. Das biologisch aktive ET-1 entsteht nach Spaltung durch das *endothelin converting enzyme* (ECE), einer Metalloprotease [88].

Als Triggersubstanzen, die über die Stimulation der Präpro-ET-1-mRNA-Synthese eine Freisetzung des Endothelins aus dem Endothel bewirken, gelten unter anderem der prokoagulatorische Faktor Thrombin [89] und Vasokonstriktoren wie Ang II und Vasopressin [90]. Außerdem werden physiochemische Faktoren wie Hypoxie und moderater Scherstress als Induktoren des ET-1-Gens beschrieben [91,92].

Als Inhibitor des Endothelinsystems gilt vor allem der Vasodilatator Stickstoffmonoxid (NO), der zusammen mit ET-1 einen parakrinen und autokrinen Regelkreis bildet. Endothelin-1 bindet an einen speziellen Rezeptor, den Endothelin B – Rezeptor (ETBR),

der die NO-Synthese anregt. Stickstoffmonoxid vermittelt durch den *second messenger* cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) die Inhibition der Präpro-ET-1-mRNA.

1.5.2 Vorkommen und Wirkung des Endothelins am Endothelinrezeptor

Endothelin-1 ist für das kardiovaskuläre System von Bedeutung. Es wird vom Endothel der Gefäße abluminal in Richtung der Gefäßmuskulatur sezerniert [93]. Nach heutigem Wissen können auch Zellen der glatten Gefäßmuskulatur, Kardiomyozyten, Fibroblasten und Entzündungszellen (Makrophagen) ET-1 produzieren [86,94].

Die Wirkung von Endothelinen wird beim Menschen über zwei G-Protein-gekoppelte, membranständige Rezeptoren vermittelt: Der ET-A- und ET-B-Rezeptor (ETAR und ETBR) [95,96].

Der im Jahre 1990 erstmalig bei Rindern beschriebene ETAR ist im Gegensatz zum ETBR selektiv für Endothelin-1 [95].

Der ETAR wird vorwiegend durch glatte Gefäßmuskelzellen und Kardiomyozyten exprimiert. Hier bewirkt er nach Stimulation durch ET-1 eine starke Gefäßkonstriktion, sowie eine Zellproliferation [97]. Abbildung 5 zeigt vereinfacht die Biosynthese und Wirkung des ET-1 über den ETAR und ETBR. Der ETBR wird auf dem Endothel von Gefäßen exprimiert und vermittelt eine transiente Vasodilatation über die Freisetzung von NO [94,98]. Über den ETBR in der Lunge wird ET-1 abgebaut.

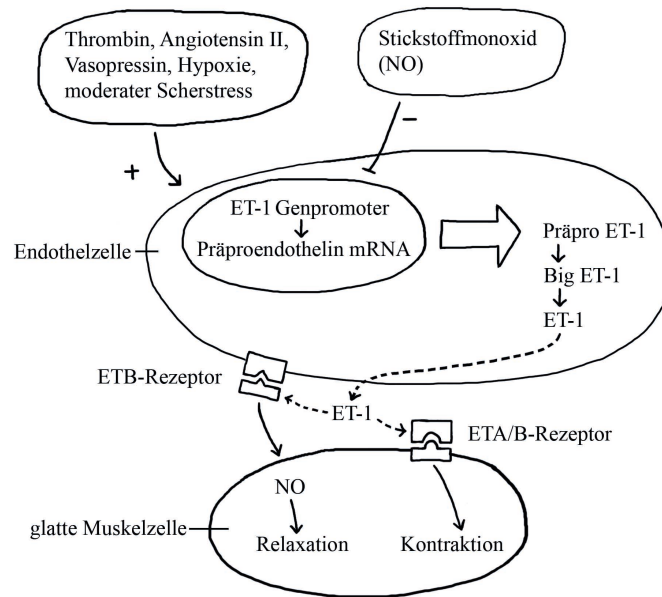


Abbildung 5: Biosynthese von ET-1 und seine Wirkung am ETAR und ETBR [99]

1.6 Pathophysiologie der Rezeptorstimulation am Angiotensin II Typ 1- und Endotelin-1 Typ A-Rezeptor

Neben der physiologischen Stimulation des AT1R und ETAR durch Ang II und ET-1 ist in den letzten Jahren mehr über die Aktivität von agonistischen Autoantikörpern berichtet worden. Die gegen GPCR gerichteten Antikörper können dabei als Agonisten und Antagonisten wirken. Ein typisches Beispiel für eine agonistische Aktivität ist der Morbus Basedow, bei dem Antikörper den G-Protein-gekoppelten Thyreoidea-stimulierenden Hormonrezeptor (TSH) aktivieren. Ein typisches Beispiel für antagonistische Aktivität an einem Rezeptor ist die Myasthenia gravis. Hier blockieren die gegen den nikotinergen Acetylcholinrezeptor gerichteten Autoantikörper die Aktivität an der neuromuskulären Endplatte. Dass AT1R- und ETAR-Autoantikörper die entsprechenden Rezeptoren unabhängig von den physiologischen Liganden stimulieren können, ist belegt [100]. Ob ihre Bindung reversibel oder irreversibel ist, ist hingegen noch nicht hinreichend geklärt.

Durch die Fähigkeit der Autoantikörper, agonistisch an die Rezeptoren zu binden, können sie an verschiedenen vaskulär bedingten Erkrankungen beteiligt sein:

Im Jahr 1999 konnten Wallukat et al. nachweisen, dass Frauen mit Präeklampsie (neu aufgetretener Hypertonus und Proteinurie nach der 20. Schwangerschaftswoche) einen Angiotensin-Rezeptor-Autoantikörper bilden, welcher im Myokard von Ratten eine Steigerung der Kontraktionsfrequenz induziert [101]. Die Autoantikörper gehören den IgG-Untergruppen IgG1 und IgG3 an und entstammen der B-Zellsubpopulation die positiv für CD19 und CD5 ist [102]. Sie wirken agonistisch am AT1R. Die Bindung erfolgt an der zweiten extrazellulären Schleife des GPCR (siehe Abb. 3). In einem *in vivo* Versuch konnte durch die Infusion von AT1R-Autoantikörper bei Ratten eine Hypertension und Proteinurie induziert werden [103].

Dragun et al. wiesen AT1R-Autoantikörper bei nierentransplantierten Patienten mit therapierefraktärer vaskulärer Abstoßung und begleitender maligner Hypertension nach [104].

Bei Patienten mit Systemischer Sklerose gehen erhöhte AT1R-Autoantikörper und ETAR-Autoantikörper mit stärkerer Krankheitsentwicklung, mehr Spätkomplikationen (pulmonale Hypertension, schwere Lungenfibrose und digitale Ulzera) sowie erhöhter krankheitsassoziierter Mortalität einher [100]. Die Autoantikörper korrelieren untereinander und sind beteiligt an der pathognomonischen Hautfibrose und dem Gefäßschaden. Beide Autoantikörper verstärkten die Genexpression des Zytokins und Signalmoleküls *Transforming growth factor* β (TGF- β) *in vitro*. *Transforming growth factor*- β wirkt profibrotisch und seine Synthese wird physiologisch auch über Ang II und ET-1 angeregt. Die Gruppe um Frau Prof. Dragun fand heraus, dass der AT1R etwa gleich stark von Ang II und AT1R-Autoantikörpern stimuliert wird. Im Gegensatz dazu wird der ETAR stärker durch ETAR-Autoantikörper stimuliert als durch physiologisches ET-1. Diese Arbeitsgruppe beschrieb zudem die Schlüsselrolle der Autoantikörper bei der Induktion einer Vasokonstriktion und der daraus resultierenden Störung der Mikrovaskularisation.

Jüngst konnte in einem *in vitro* Versuch gezeigt werden, dass AT1R-Autoantikörper eine direkte Vasokonstriktion der fetoplazentaren arteriellen Gefäße bei Präeklampsiepatienten induziert [105]. Interessanterweise ließ der Effekt des AT1R-Autoantikörpers am AT1R im Gegensatz zum Ang II für die Zeit des Experimentes nicht nach.

1.7 Fragestellung

Dem Immunsystem kommt bei der Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung vermutlich eine tragende Rolle zu. Verschiedene Studien geben Hinweise darauf, dass B-Zell-vermittelte Prozesse an einer systemischen Inflammation beteiligt sind und in diesem Rahmen Antikörper- und Autoantikörper die Atherosklerosebildung vorantreiben können. In Studien an Mäusen, bei denen die B-Zellfunktion gehemmt wurde, hat man eine Hemmung der Progression einer intimalen Plaquebildung beobachten können [48,49].

Neben der koronaren Herzerkrankung und der Sklerose der hirnversorgenden Gefäße ist die (p)AVK eine Volkskrankheit, bei der es zu arterio- und atherosklerotischen Gefäßveränderungen kommt. Hinsichtlich des Vorliegens und der pathogenetischen Beteiligung von (Auto-)Antikörpern bei der Entstehung und Progression der (p)AVK ist bisher wenig bekannt.

Bei verschiedenen kardiovaskulären Erkrankungen wurden rezeptorstimulierende Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A-Rezeptor-Autoantikörper identifiziert, die in Zusammenhang mit Hypertonie, vaskulären Entzündungsprozessen sowie atherosklerotischer Gefäß- und Organschädigung gebracht werden [100,104,106,107]. So konnte beispielsweise in humanen Koronarien eine Korrelation zwischen fortgeschrittenem Atherosklerosegrad und der AT1R-Dichte gefunden werden [106]. Bei Empfängern eines Nierentransplantates mit therapierefraktärer vaskulärer Abstoßung ließen sich bei allen Patienten mit begleitender maligner Hypertension AT1R-Autoantikörper nachweisen [104]. Bei der systemischen Sklerose, die sich vor allem durch fibrotische und vaskuläre Komplikationen auszeichnet, konnte die Beteiligung der AT1R- und ETAR-Autoantikörper an einer stärkeren Krankheitsentwicklung und an der krankheitsbedingten Mortalität belegt werden [100].

In der vorliegenden Arbeit soll in einer Gruppe von 200 Patienten mit arterieller Verschlusskrankheit untersucht werden, ob Autoantikörper gegen AT1R- und ETAR vorliegen. Es ist darüber hinaus von besonderem Interesse, einen möglichen Zusammenhang zwischen der Höhe der Autoantikörpertiter und dem Vorliegen von klassischen Risikofaktoren beziehungsweise dem Auftreten von kardiovaskulären

Ereignissen aufzudecken. Dabei gilt es zu untersuchen, ob das Vorliegen mehrerer oder bestimmter Risikofaktor-Konstellationen mit besonders hohen Autoantikörpertitern korreliert. Im Anschluss soll untersucht werden, ob sich ein auffälliges Autoantikörperprofil gegen den AT1- und ETA-Rezeptor mit einem auffälligen kardiovaskulären Risikoprofil assoziieren lässt.

Weiterhin soll nach markanten Verteilungsmustern innerhalb der gebildeten Subgruppen, die zwischen Autoantikörper-negativen, -positiven und -hochpositiven Patienten (Gruppe 1-3) unterscheiden, gesucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Aufnahme der Patienten in die Studie

Der Antrag auf Genehmigung zur Durchführung der Studie wurde durch die Ethikkommission der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg bewilligt (Journalnummer 111/10; Studienprotokoll und Einwilligungserklärung siehe Anhang).

Die Patienten wurden auf einer gefäßchirurgischen Station im Zeitraum zwischen Juli 2010 und März 2012 rekrutiert. Aufnahmekriterium war nach dem schriftlichen Einverständnis der Patienten das Vorliegen einer (p)AVK, die Abnahme einer Blutprobe im Rahmen der Routinediagnostik sowie eine diagnostische und/oder interventionelle DSA der unteren Extremitäten. Es wurde eine ausführliche Anamnese erhoben und Daten zum Krankheitsverlauf, anderen Grunderkrankungen, typische Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Dyslipidämie, Rauchverhalten und arterieller Hypertonie, sowie Familien- und Medikamentenanamnese, Wundheilungsstörungen und Gehstrecke dokumentiert. Eine arterielle Hypertonie wurde definiert als ein unbehandelter arteriellen Blutdruck $> 140/90$ mm Hg. Das Kriterium Dyslipidämie wurde erfüllt bei Einnahme eines HMG-CoA-Reduktase-Hemmers und/oder durch einen HDL-Cholesterinwert $< 0,9$ Millimol pro Liter (mmol/l) und/oder LDL-Cholesterinwert $> 2,6$ mmol/l und/oder einen Triglyzeridwert $> 2,3$ mmol/l. Mittels Anamnese und Einbeziehung der Patientenakten wurde das Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung, eines zerebralen Insultereignisses und der arteriosklerotische Befall der Karotiden vermerkt. Zusätzlich konnten das Ergebnis einer Neurodoppleruntersuchung, ABI-Messungen und (p)AVK-Stadienbestimmung hinzugezogen werden.

2.2 Bestimmung der Autoantikörper gegen ETAR und AT1R

Ein EDTA-Röhrchen mit 8 Milliliter (ml) venösem Blut wurde zur späteren Bestimmung der Autoantikörpertiter abgenommen und aufgearbeitet. Dazu wurden die Blutproben bei Raumtemperatur in einer Zentrifuge (Heraeus Labofuge 200 Centrifuge, Thermo Scientific, Waltham, USA) für 10 Minuten (min) bei 4.000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Pro Patient wurden vier 1,5 ml Safe Lock Eppendorf Aliquots mit jeweils 1 ml des Überstandes befüllt. Bis zur Weiterverarbeitung wurden die Serumproben bei -80 Grad Celsius ($^{\circ}\text{C}$) gelagert.

Die Bestimmung der Anti-AT1R und Anti-ETAR-Autoantikörpertiter erfolgte mit Hilfe eines Sandwich ELISA (CellTrend GmbH, Luckenwalde, Deutschland; Katalog: 12000 und 12100), wie von Riemekasten et al. beschrieben [100]. Die Polystyren Mikrotiterplatten im 96-well Format wurden mit Extrakt aus Ovarzellen chinesischer Hamster, welche die menschlichen Autoantikörperrezeptoren überexprimieren, benetzt. Zum Erhalt der konformationellen Epitope der Rezeptoren wurde in jede Kavität 1 mmol Kalziumchlorid hinzugefügt. Doppelte Patientenseren wurden in einer Verdünnung von 1:100 pipettiert und bei 4°C für 120 min inkubiert. Nach dem Waschen wurde ein an Meerrettich-Peroxidase der Ziege gekoppelter anti-humaner-IgG-Antikörper (Jackson, West Grove, Pennsylvania, USA) zur Detektion hinzugefügt. Der Antikörper wurde auf eine Konzentration von 1:20.000 verdünnt und für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert. Es erfolgte ein erneutes Waschen. Abschließend wurde die Antikörperbindung durch Zugabe von Substrat (100 Mikroliter (µl)/well), welches einen Farbkomplex bildet, gemessen. Nach 20 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde eine Stopplösung (100 µl/well) zugegeben und der Farbumschlag bei 450 Nanometer (nm) (optional gegen Referenzwellenlänge) gemessen. Die Farbintensität war proportional der Konzentration und/oder der Avidität der Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A- Rezeptor-Antikörper.

Zum Erhalt einer Standardkurve wurde jeweils ein Testserum von Autoantikörperpositiven Indexpatienten verwendet. Der Intraassay-Variationskoeffizient betrug 7%, der Interassay-Variationskoeffizient betrug 6 %.

2.3. Bestimmung weiterer Laborparameter

Am Aufnahmetag der Patienten wurden aktuelle Laborparameter durch die klinikseigene Routinediagnostik bestimmt:

- Elektrolyte (Kalzium, Chlorid, Magnesium, Natrium, Phosphat, Kalium)
- Leukozyten
- C-reaktives Protein (CRP)
- Triglyzeride
- HDL/LDL-Cholesterin
- Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR)
- HbA1c

- Harnsäure
- Harnstoff
- 25-Hydroxy-Vitamin D3 (25-OH-Vitamin D3)

Die Hämoglobin- und Leukozytenzahlbestimmung erfolgte mittels ADVIA®2120 (Siemens, Healthcare Diagnostics, Eschborn, Deutschland). Der HbA1c-Wert wurde mit Hilfe eines vollautomatischen Hämoglobin Testsystems (Variant II, Bio-Rad Laboratories, München, Deutschland) durchgeführt. Alle weiteren Parameter wurden auf einer *modular platform* photometrisch bestimmt (Roche Diagnostik, Mannheim, Deutschland). Das LDL-Cholesterin wurde mit Hilfe der Friedewald Formel berechnet.

Die Auswertung einer venösen Blutgasanalyse (pH, pO₂, s_aO₂, pCO₂, HCO₃, BE) erfolgte direkt im Anschluss an die venöse Punktion mittels Blutgasanalysator (Radiometer Copenhagen GmbH, ABL 700 series, Willich, Deutschland).

Die Bestimmung aller Laborparameter wurde bezüglich der Patienteneigenschaften vollständig verblindet durchgeführt.

2.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS für Windows (Version 19,0).

Zur Korrelationsanalyse wurde die Patientenkohorte entsprechend der Autoantikörperlevel gegen AT1R und ETAR gruppiert. Ein Autoantikörpertiter von 2,5 Einheiten wurde als untere Sensitivitätsgrenze festgesetzt. Patienten mit Autoantikörpertitern $\leq 2,5$ Einheiten wurden als negativ angesehen, Patienten mit Autoantikörpertitern $> 2,5$ Einheiten als positiv.

Die Einteilung erfolgte in drei Gruppen:

1. Patienten mit Negativität für Autoantikörper ($\leq 2,5$ Einheiten)
2. Patienten mit positiven Autoantikörpertitern ($> 2,5$ Einheiten)
3. Patienten mit hoch positiven Autoantikörpertitern (75% Konfidenzintervall, AT1R-Autoantikörper $> 9,0$ Einheiten, ETAR-Autoantikörper $> 7,9$ Einheiten)

Die Korrelation erfolgte unabhängig und gruppenspezifisch.

Die Negativgruppe wurde mit der einfachen Positivgruppe (Gruppe 1 vs. Gruppe 2) und die Negativgruppe mit dem Vorliegen klassischer Risikofaktoren oder kardiovaskulärer Erkrankungen korreliert. Anschließend wurden die Patienten mit Titern oberhalb der 75. Perzentile mit der Negativgruppe korreliert (Gruppe 1 vs. Gruppe 3).

Folgende Laborwerte wurden in die Auswertung einbezogen: Triglyzeride, Cholesterol, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, CRP, Leukozyten, Harnstoff, Harnsäure, Phosphat und HbA1c. Folgende weitere Befunde wurden einbezogen: Alter, *Body-Mass-Index* (BMI), Diabetes mellitus Typ 2, Herzinfarkt, Apoplexia cerebri, arterieller Hypertonus, koronare Herzerkrankung und Nikotinkonsum in der Anamnese.

Zuerst erfolgte die Einzelkorrelation, bei der die beiden Autoantikörper unabhängig voneinander betrachtet und mit den Risikofaktoren korreliert wurden. In einem weiteren Schritt erfolgte eine gruppierte Korrelation. Es wurden nur diejenigen Patienten einbezogen, die gleichzeitig Positivität für beide Autoantikörper zeigten. War nur einer der beiden Autoantikörper positiv, wurde der Patient in der Korrelation nicht berücksichtigt.

Der Nachweis von Normalverteilung erfolgte mit Hilfe von Histogrammen. Bei nicht-parametrischen Daten wurde der Median (25-75 % Konfidenzintervall) angenommen. Als statistische Tests dienten der Mann-Whitney U-Test und der Chi-Quadrat-Test. Bei Fallzahlen < 5 wurde der Fisher-Exakt-Test angewendet. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten r erfolgte nach Pearson. Statistische Signifikanz wurde für einen zweiwertigen p -Wert $< 0,05$ angenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Während des Aufnahmezeitraums wurden 200 Patienten in die Studie eingeschlossen. Es zeigte sich ein deutliches Überwiegen der männlichen (156 Männer) gegenüber den weiblichen (44 Frauen) Patienten. Das durchschnittliche Alter lag bei 67 Jahren (Spannweite: 44-96 Jahre).

Bei allen Patienten konnte eine durch die DSA bestätigte arterielle Verschlusskrankung nachgewiesen werden. Bei 183 Patienten wurde eine (p)AVK diagnostiziert, 17 Patienten zeigten nur isolierte Verengungen der Aortal- oder Iliakalgefäße, beziehungsweise der Karotiden ohne relevante periphere Durchblutungsstörungen. In der überwiegenden Zahl der Fälle lag ein Fontaine-Stadium 2b vor (88 Patienten, 44%, siehe Tabelle 2). Bei 22 Patienten (11 %) war eine (Teil-) Amputation einer oder mehrerer Gliedmaßen erfolgt.

In der gesamten Kohorte ließen sich anamnestisch klassische Risikofaktoren für eine arterielle Verschlusskrankheit identifizieren:

Von 172 Patienten (86%) wurde ein Nikotinkonsum angegeben, der in Packungsjahren (engl.: *Pack years*, py) dokumentiert wurde. Der durchschnittliche Nikotinkonsum lag bei 31 *pack years* (Spannweite 0-153 py). Ähnlich häufig waren die Patienten von einem arteriellen Hypertonus betroffen (167 Patienten; 84%). Bei 162 Patienten (81%) lag eine Dyslipidämie vor. An einem Diabetes mellitus waren 86 Patienten (43%) erkrankt. Der BMI lag durchschnittlich bei 27,8, die berechneten Werte lagen zwischen 16,85 und 56,79.

Nebenbefundlich gaben 86 Patienten (43%) anamnestisch zusätzlich eine koronare Herzerkrankung (KHK) an. Davon hatten 49 Patienten (25%) bereits einen akuten Myokardinfarkt (AMI) erlitten. 34 Patienten (17%) berichteten von einem stattgehabten Schlaganfall in der Vergangenheit.

Ferner wurde bei 39 Patienten (20%) ein in der Anamnese angegebenes Aortenaneurysma dokumentiert. Bei 10 Patienten (5%) lag eine Autoimmunerkrankung vor. 62 Patienten (31%) gaben eine chronische Nierenerkrankung an, davon waren 23 Patienten (12%) dialysepflichtig.

Tabelle 2 fasst die epidemiologischen Patientencharakteristika zusammen.

Tabelle 2: Epidemiologische Patientencharakteristika (n=200)

Variable	absolute Häufigkeit	Häufigkeit in %	Durchschnitt (Spannweite)
Männlich	156	78	
Weiblich	44	22	
Alter	–	–	67 (44-96)
(p)AVK insgesamt	183	92	
(p)AVK Stadium 1	1	0,5	
(p)AVK Stadium 2a	13	6,5	
(p)AVK Stadium 2b	88	44	
(p)AVK Stadium 3	22	19,5	
(p)AVK Stadium 4	59	29,5	
Isolierter Gefäßbefall	17	9	
(Teil-) Amputation	22	11	
Nikotinkonsum	172	86	31 py (0-153)
Arterieller Hypertonus	167	84	
Diabetes mellitus	86	43	
Dyslipoproteinämie	152	81	
BMI	–	–	27,8 (16,85-56,79)
KHK	86	43	
AMI	49	25	
Schlaganfall	34	17	
Aortenaneurysma	39	20	
Autoimmunerkrankung	10	5	
chronische Nierenerkrankung (Dialysepflichtigkeit)	62 (23)	31 (12)	
Statine	88	44	
Acetylsalicylsäure (ASS)	144	72	
Immunsuppressiva	5	2,5	

3.2 Prävalenz der Rezeptor-Autoantikörper im Patientenkollektiv

Bei allen in die Studie aufgenommenen Patienten wurden die AT1R- und ETAR - Autoantikörperbestimmung mittels oben beschriebenen ELISA Verfahren durchgeführt. Das Sensitivitätslimit des Verfahrens lag für beide Autoantikörper bei 2,5 Einheiten. Titer $\geq 2,6$ Einheiten wurden als positiv angesehen, Titer $\leq 2,5$ Einheiten als negativ. In der überwiegenden Zahl der Fälle konnten beide Autoantikörper in den Patientenseren nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der ELISA-Autoantikörpertestung gegen AT1- und ETA-Rezeptoren sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Erhebung der AT1R- und ETAR-Rezeptor-Autoantikörpertiter

Patientennr.:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AT1R-AAK	2,5	11,4	6,01	3,69	2,5	2,5	6,37	2,5	2,5	9,75
ETAR-AAK	2,5	12,1	4,04	4,37	2,5	2,68	5	4,38	4,13	10,4
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	3,07	2,5	8,46	6,39	6,01	18,2	17,6	3,91	15,5	7,15
	4,82	3,39	2,88	6,8	6,49	32,3	19,2	3,73	18,5	7,64
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	2,5	7,73	2,5	6,2	3,86	2,5	6,35	3,35	9,51	5,97
	2,5	7,9	2,5	4,65	4,02	2,5	5,01	3,79	9,65	6,53
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	2,5	9,17	2,5	9,52	2,5	2,5	2,5	2,5	40	4,18
	2,5	5,72	4,24	9,74	2,74	2,5	2,5	2,74	17,9	4,8
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
	13	6,04	8,61	2,5	2,5	7,48	8,34	2,5	4,12	10
	16,3	3,62	5,47	3,9	2,5	7,17	6,5	2,5	4,36	9,76
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
	7,27	2,5	2,5	18,3	31,7	3,86	3,32	8,54	9,53	2,5
	7,22	2,6	4,04	23,7	35,4	4,45	3,12	6,58	6,57	2,5
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
	6,32	2,5	2,5	3,99	2,5	4,03	11,3	6,45	10,7	7,96
	4,21	2,5	2,5	4,28	2,5	4,56	10,5	4,03	8	7,37
	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
	5,64	2,5	2,5	8,62	7,25	9,36	2,61	3,66	6,73	7,39
	3,04	3,79	2,5	7,12	6,4	7,32	4,29	2,5	3,43	7,16
	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
	12,6	2,5	2,5	3,52	5,8	9,07	2,5	4,78	2,5	11,4
	12,6	2,51	3,54	4,23	4,92	8,47	2,5	4,08	2,5	8,88
	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
	5,16	5,2	2,5	10,6	5,62	10,1	6,81	6,78	2,5	2,9
	5,59	10,1	2,5	10,2	5,08	10,8	5,73	7,01	2,78	4,2
	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
	8,05	3,67	5,61	15,5	8,42	6,85	2,5	4,05	9	8,35
	4,85	3,46	3,5	12,4	8,25	5,12	2,5	3,15	7,3	11,8
	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
	7,63	4,55	6,17	8,43	2,5	2,5	2,5	3,13	2,5	6,18
	6,48	3,97	5,19	6,21	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
	2,5	5,52	2,5	2,5	3,21	4,29	3,2	2,5	8,63	3,43
	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	3,83	2,5
	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
	5,27	9,3	4,68	7,2	33	5,54	2,5	2,5	6,17	2,5
	2,5	5,05	2,5	2,5	23,7	2,5	2,5	2,5	2,5	3,95
	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
	2,5	2,5	2,5	7,63	5,95	2,5	11	2,5	2,5	2,5
	2,5	2,5	2,5	2,5	4,41	2,5	9,13	2,5	2,5	2,5
	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160

	2,5	2,5	2,5	7,22	2,5	15,2	2,5	7,32	5,51	9,83
	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	13	2,5	4,8	2,5	7,24
	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170
	6,39	6,12	6,68	6,14	2,5	5,58	4,63	3,77	2,5	2,5
	3,89	4,87	2,83	5,06	2,5	2,5	2,51	2,5	2,5	2,5
	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
	2,5	2,5	2,5	2,5	16,9	4,11	2,5	2,5	2,5	2,5
	2,5	2,5	2,5	2,5	13,1	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190
	5,49	2,5	3,99	2,5	2,5	2,5	6,69	3,63	4,96	2,5
	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	5,2	2,5	2,5	2,5
	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
	40	3,63	2,5	7,47	5,17	2,5	6,94	2,5	2,5	2,5
	40	2,5	2,5	3,22	4,84	2,5	5,31	2,5	2,5	2,5

Für beide Autoantikörper wurden Titer zwischen 2,5 und 40 Einheiten gemessen. Der Titer für die AT1R-Autoantikörper war zu 61,5% positiv (123/200 Patienten). Der ETAR-Autoantikörpertiter war zu 57% positiv (114/200 Patienten). Der Median lag bei den für AT1R-Autoantikörper positiv getesteten Patienten bei 6,45 (25.-75. Perzentile: 4,78–9,0) Einheiten, bei den für ETAR-Autoantikörper positiv Getesteten bei 5,07 (4,02–7,92) Einheiten.

Ein Teil der 200 Patienten konnte der hoch positiven Gruppe 3, mit Autoantikörpertitern über der 75. Perzentile zugeordnet werden. Dazu zählten 30/200 Patienten mit AT1R-Autoantikörpern und 28/200 Patienten mit ETAR-Autoantikörpern. Der Median in dieser Gruppe lag bei 11,30 (9,69–17,04) bzw. 11,95 (9,74–18,34) Einheiten.

Die Tabellen 4a und 4b zeigen den Median und die 25.-75. Perzentile für die AT1R- und ETAR-Autoantikörper in der Gesamtkohorte (n=200), der einfach positiven Gruppe (n=77 bzw. n=86) und der hoch positiven Gruppe (n=30 bzw. n=28). Als hoch positiv galt bei den AT1R-Autoantikörpern ein Wert > 9,0 Einheiten, bei den ETAR-Autoantikörpern ein Wert > 7,92 Einheiten.

Tabelle 4a: Median und 25.-75. Perzentile für AT1R-Autoantikörpertiter in der Negativ-, Einfach- und Hochpositivgruppe

Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2.5 (n=77)	> 2.5 (n=123)	> 75% Perzentile (> 9,00, n=30)
4,08 (<2,5-7,26)	/	6,45 (4,78-9,0)	11,30 (9,69-17,04)

Legende: / = Wert liegt unterhalb der ELISA Sensitivitätsgrenze

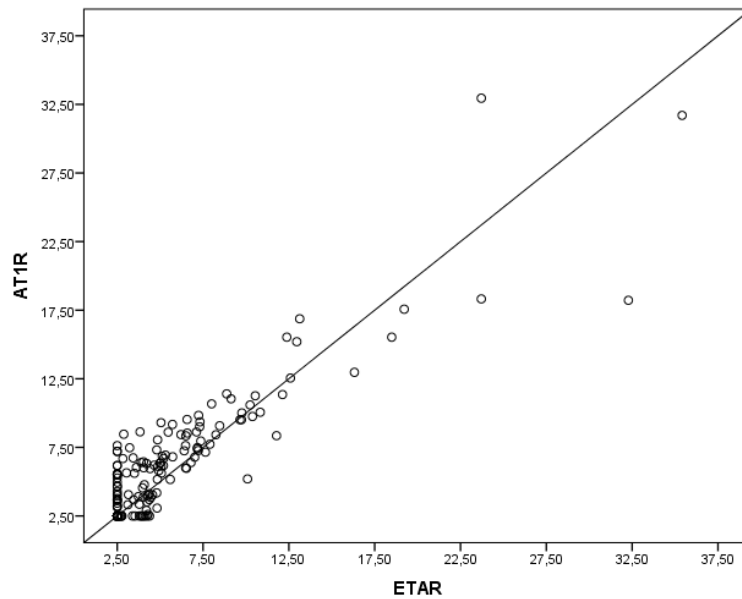
Tabelle 4b: Median und 25.-75. Perzentile für ETAR-Autoantikörpertiter in der Negativ-, Einfach- und Hochpositivgruppe

Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2.5 (n=86)	> 2.5 (n=114)	> 75% Perzentile (>7,92, n=28)
3,41 (<2,5-5,68)	/	5,07 (4,02-7,92)	11,95 (9,74-18,34)

Legende: / = Wert liegt unterhalb der ELISA Sensitivitätsgrenze

3.3 Korrelationsanalysen der AT1R- und ETAR-Autoantikörper

Die Korrelationsanalysen nach Pearson ergaben eine stark positive, statistisch signifikante Korrelation zwischen den Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A-Rezeptor-Autoantikörpertitern. Diese zeigte sich zum einen in der Gesamtkohorte: Hier lag der Korrelationskoeffizient r^2 bei 0,79 ($r= 0,89$, $n=200$). Die Patienten, die negativ für AT1R-Autoantikörper getestet wurden, waren gleichzeitig auch negativ für ETAR-Autoantikörper. Äquivalent dazu zeigte sich bei Vorliegen von Positivität für einen Autoantikörper meist auch der zweite Autoantikörpertiter positiv. Graph 1 veranschaulicht die Korrelation der AT1- und ETA-Rezeptorantikörper in der Gesamtkohorte.



Graph 1: Korrelation der Autoantikörpertiter für AT1R und ETAR in der Gesamtkohorte (n=200)

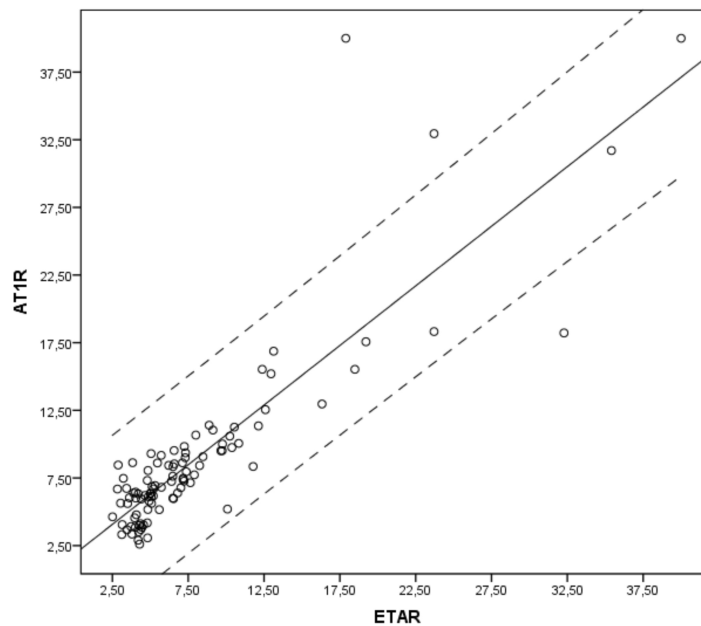
Zum anderen zeigte sich diese enge Korrelation auch bei den Patienten, die gleichzeitig für beide Autoantikörper positiv waren. In diese Analyse wurden nur die Patienten eingeschlossen, bei denen sowohl die AT1R-Autoantikörper als auch die ETAR-Autoantikörpertiter über dem Sensitivitätslimit von 2,5 Einheiten lagen. Zu dieser Gruppe zählten 99 Patienten (n=99; $r = 0,869$, $r^2 = 0,76$). Siehe Tabelle 5.

Tabelle 5: Korrelation der AT1R und ETAR-Autoantikörper in der Gesamtkohorte und in der Gruppe AT1R und ETAR > 2,5 Einheiten

Angegeben ist der Korrelationskoeffizient nach Pearson (r^2).

Korrelationskoeffizient	Gesamtkohorte (n=200)	AT1R und ETAR > 2,5 (n=99)
r	0,89	0,87
r ²	0,79	0,76

Graph 2 verdeutlicht die Korrelation der Patienten, die für beide Autoantikörpertiter positiv waren.



Graph 2: Korrelation von Autoantikörpern gegen AT1R und ETAR mit Patienten, die gleichzeitig positiv für beide Autoantikörper waren (AT1R und ETAR > 2,5, n=99). Die gestrichelte Linie zeigt das 95%-Konfidenzintervall an ($r^2=0,76$).

3.3.1 Korrelation der Autoantikörper mit kardiovaskulären Risikofaktoren

Es sollte untersucht werden, ob ein kardiovaskuläres Risikoprofil oder das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse wie Schlaganfall und Herzinfarkt mit einer Positivität für die AT1R- und ETAR-Autoantikörper korrelieren. Dazu wurde ermittelt, ob sich das Auftreten und Ausmaß der typischen Risikofaktoren in der Gruppe der einfach positiven und hoch positiven Patienten im Vergleich zur Gruppe ohne Autoantikörper unterschiedlich darstellt. Im ersten Schritt erfolgte eine Einzelkorrelation, bei der die beiden untersuchten Autoantikörper einzeln betrachtet wurden. Im zweiten Schritt erfolgte eine gruppierte Korrelation, bei der nur Patienten eingeschlossen wurden, die gleichzeitig für beide Autoantikörper positiv (AT1R und ETAR > 2,5) waren:

Einzelkorrelation

In der Einzelkorrelation wurden die AT1R- und die ETAR-Autoantikörpertiter unabhängig voneinander betrachtet. Im ersten Schritt wurde mit ausgesuchten Laborparametern (Triglyzeride, Cholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, CRP, Leukozyten, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Phosphat und HbA1c) korreliert (Tabellen 6a-6d). Dabei wurde zwischen „Einfachpositivgruppe“ und „Hochpositivgruppe“ unterschieden. Im zweiten Schritt wurden die Autoantikörpertiter mit typischen

Risikofaktoren für eine arterielle Verschlusskrankheit (Geschlecht, Diabetes mellitus, Rauchen, Hyperlipoproteinämie und arterieller Hypertonus) sowie kardiovaskulären Ereignissen (Herzinfarkt, Schlaganfall) korreliert (siehe Tabellen 7 a-d). In Tabelle 6a zeigt der p1-Wert die Signifikanz für die Korrelation der einfach positiven Gruppe mit der Negativgruppe für die AT1R-Autoantikörper.

Tabelle 6a: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Einfachpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ-, und Einfachpositivgruppe.

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2.5 (n=77)	> 2.5 (n=123)	p1- Wert
AT1R	Einheit	4,08 (<2,6-7,26)	/	6,45 (4,78-9,0)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,51 (1,28-2,18)	1,55 (1,14-2,04)	0,5
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,21-5,79)	4,93 (3,88-5,82)	0,704
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,82 (2,28-3,53)	2,72 (2,09-3,55)	0,473
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,24 (1,05-1,44)	1,17 (0,98-1,48)	0,507
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	7,0 (2,1-17,9)	6,5 (1,87-28,35)	0,821
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,8 (6,22-9,60)	8,8 (7,2-11,02)	0,021
Kreatinin	umol/l	87 (67,0-123,75)	87 (69-119)	87 (67,5-128)	0,868
Harnstoff	umol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,1 (4,6-9,15)	6,3 (4,7-8,8)	0,451
Harnsäure	umol/l	364 (295-450)	383 (315-453)	356 (274-450)	0,245
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,13 (0,98-1,29)	1,07 (0,94-1,24)	0,136
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,2 (5,9-6,8)	6,2 (5,9-7,2)	0,506

In Tabelle 6b zeigt der p2-Wert die Signifikanz für die Korrelation der Hochpositivgruppe (AT1R > 9,0) mit der Negativgruppe (AT1R ≤ 2,5).

Tabelle 6b: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Hochpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p2-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ- und Hochpositivgruppe.

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤2.5 (n=77)	> 75% Perzentile (> 9,00, n=30)	p2- Wert
AT1R	Einheit	4,08 (<2,6-7,26)	/	11,30 (9,69-17,04)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,51 (1,28-2,18)	1,42 (1,19-2,33)	0,403
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,21-5,79)	5,22 (3,98-6,04)	0,512
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,82 (2,28-3,53)	2,98 (2,16-4,02)	0,68
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,24 (1,05-1,44)	1,31 (0,96-1,51)	0,705
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	7,0 (2,1-17,9)	3,55 (1,32-21,10)	0,211
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,8 (6,22-9,60)	7,95 (6,95-10,75)	0,498
Kreatinin	µmol/l	87 (67,0-123,75)	87 (69-119)	86 (74,50-123,75)	0,76
Harnstoff	µmol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,1 (4,6-9,15)	6,15 (4,75-9,22)	0,814
Harnsäure	µmol/l	364 (295-450)	383 (315-453)	329 (269-425)	0,212
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,13 (0,98-1,29)	1,12 (0,99-1,31)	0,841
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,2 (5,9-6,8)	6,3 (5,67-7,07)	0,859

Bei der Suche nach Zusammenhängen zwischen Fettstoffwechselfparametern (Triglyzeride, HDL- und LDL-Lipoproteine) und HbA1c als Maß für die klassischen Risikofaktoren und den Autoantikörpern konnte keine signifikante Korrelation hergestellt werden. Eine statistische Signifikanz ergab sich beim Vergleich der Leukozytenzahlen der Negativgruppe mit der einfach positiven Gruppe ($p_1=0,021$). Die Signifikanz bestätigte sich allerdings nicht beim Vergleich der Hochpositiven mit der Negativgruppe ($p_2=0,498$; siehe Tabelle 6b). In Bezug auf die restlichen korrelierten Laborparameter (Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure und Phosphat) gab es keine signifikanten Abhängigkeiten.

Die Tabellen 6c und 6d zeigen die Korrelation der ETAR-positiven Patienten mit verschiedenen ausgesuchten Laborparametern.

Tabelle 6c: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Einfachpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ- und Einfachpositivgruppe.

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2.5 (n=86)	> 2.5 (n=114)	p1- Wert
ETAR	Einheit	3,41 (<2,5-5,68)	/	5,07 (4,02-7,92)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,62 (1,21-2,22)	1,51 (1,22-2,03)	0,701
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,02-5,98)	4,92 (4,00-5,67)	0,581
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,89 (2,05-3,97)	2,72 (2,18-3,43)	0,617
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,22 (1,02-1,49)	1,19 (1,00-1,47)	0,586
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	8,3 (1,80-33,15)	6,4 (1,9-23,67)	0,706
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,95 (6,52-10,30)	8,65 (6,87-10,92)	0,109
Kreatinin	μmol/l	87 (67,0-123,75)	87 (67,75-135,25)	85 (67-117)	0,384
Harnstoff	μmol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,35 (4,77-9,52)	6,1 (4,67-8,5)	0,561
Harnsäure	μmol/l	364 (295-450)	369 (306-440)	361 (289-462)	0,993
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,10 (0,92-1,29)	1,10 (0,98-1,25)	0,771
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,1 (5,9-6,8)	6,3 (5,9-7,2)	0,098

Tabelle 6d: Korrelation der ETAR-Autoantikörpern mit ausgesuchten Laborparametern (Hochpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ- und Hochpositivgruppe

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2.5 (n=86)	> 75% Perzentile (> 7,92, n=28)	p2- Wert
ETAR	Einheit	3,41 (<2,5-5,68)	/	11,92 (9,74-18,34)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,62 (1,21-2,22)	1,44 (1,24-2,44)	0,843
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,02-5,98)	5,3 (4,35-6,12)	0,232
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,89 (2,05-3,97)	3,14 (2,45-4,05)	0,326
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,22 (1,02-1,49)	1,31 (1,02-1,51)	0,628
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	8,3 (1,80-33,15)	4,75 (1,55-18,52)	0,203
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,95 (6,52-10,30)	7,9 (7,17-9,87)	0,944
Kreatinin	μmol/l	87 (67,0-123,75)	87 (67,75-135,25)	89 (77-125,25)	0,78
Harnstoff	μmol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,35 (4,77-9,52)	6,2 (4,65-8,87)	0,787
Harnsäure	μmol/l	364 (295-450)	369 (306-440)	353 (300-462)	0,953
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,10 (0,92-1,29)	1,07 (0,93-1,29)	0,759
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,1 (5,9-6,8)	6,35 (5,95-7,0)	0,402

Es zeigte sich ein Trend für höhere HbA1c-Werte bei dem Vergleich der Positivgruppe mit der Negativgruppe ($p=0,098$). Der Trend wurde bei der Betrachtung der Hochpositivgruppe nicht gefunden ($p=0,402$).

Die restlichen p-Werte der Analyse zeigten keine statistische Signifikanz.

In einem weiteren Schritt erfolgte die Korrelation der einzelnen Autoantikörper mit dem Vorliegen kardiovaskulärer Risikofaktoren und Ereignisse (Herzinfarkt/Schlaganfall) für die Einfach- und Hochpositivgruppe. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 7a und 7b für den AT1R und in den Tabellen 7c und 7d für den ETAR dargestellt.

Tabelle 7a: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte (n=200)	< 2.5 (n=77)	> 2.5 (n=123)	p1
Geschlecht	m=156, w=44	m=63, w=14	m=93, w=30	0,302
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=28, Nein=49	Ja=58, Nein=65	0,134
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=68, Nein=9	Ja=104, Nein=19	0,456
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=60, Nein=17	Ja=102, Nein=21	0,38
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=66, Nein=11	Ja=101, Nein=22	0,504
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=28, Nein=49	Ja=58, Nein=65	0,134
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=16, Nein=61	Ja=33, Nein=90	0,333
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=13, Nein=64	Ja=21, Nein=102	0,972

Tabelle 7b: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte (n=200)	< 2.5 (n=77)	> 75% Perzentile (> 9,0, n=30)	p2
Geschlecht	m=156, w=44	m=63, w=14	m=19, w=11	0,042
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=28, Nein=49	Ja=14, Nein=16	0,327
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=68, Nein=9	Ja=23, Nein=7	0,129
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=60, Nein=17	Ja=26, Nein=4	0,419 ¹
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=66, Nein=11	Ja=25, Nein=5	0,756
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=28, Nein=49	Ja=14, Nein=16	0,327
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=16, Nein=61	Ja=9, Nein=21	0,311
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=13, Nein=64	Ja=7, Nein=23	0,442

Legende: ¹Exakter Test nach Fisher, da n < 5

Tabelle 7c: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte (n=200)	< 2.5 (n=86)	> 2.5 (n=114)	p1
Geschlecht	m=156, w=44	m=70, w=16	m=86, w=28	0,314
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=33, Nein=53	Ja=53, Nein=61	0,251
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=77, Nein=9	Ja=95, Nein=19	0,211
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=69, Nein=17	Ja=93, Nein=21	0,81
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=75, Nein=11	Ja=92, Nein=22	0,22
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=35, Nein=51	Ja=51, Nein=63	0,568
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=21, Nein=65	Ja=28, Nein=86	0,981
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=16, Nein=70	Ja=18, Nein=96	0,6

Tabelle 7d: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte (n=200)	< 2.5 (n=86)	>75% Perzentile (> 7,92, n=28)	p2
Geschlecht	m=156, w=44	m=70, w=16	m=19, f=9	0,133
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=33, Nein=53	Ja=15, Nein=13	0,157
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=77, Nein=9	Ja=22, Nein=6	0,136
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=69, Nein=17	Ja=24, Nein=4	0,516 ¹
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=75, Nein=11	Ja=21, Nein=7	0,124
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=35, Nein=51	Ja=15, Nein=13	0,233
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=21, Nein=65	Ja=10, Nein=18	0,243
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=16, Nein=70	Ja=7, Nein=21	0,464

Legende: ¹Exakter Test nach Fisher, da $n < 5$

Angegeben ist die Anzahl der Patienten, die einen Risikofaktor bzw. Begleiterkrankung aufwiesen (Ja/Nein). Das Geschlecht ist durch ein „w“ für weiblich und ein „m“ für männlich gekennzeichnet. Der p1-Wert beschreibt jeweils den Grad der Korrelation des Risikofaktors bzw. der Begleiterkrankung mit den Titern der AT1R- bzw. ETAR-Autoantikörper der Positivgruppe im Vergleich zur Negativgruppe. Der p2-Wert gibt den Grad der Korrelation der Negativgruppe mit der Hochpositivgruppe an.

Bei den AT1R-Autoantikörpern zeigte sich in der Hochpositivgruppe ein Trend für höhere AT1R-Autoantikörpertiter bei der Geschlechterverteilung ($p=0,042$). Darüber hinaus wurde sowohl in der Analyse der AT1R-Autoantikörper als auch der ETAR-Autoantikörper keine statistisch signifikante Korrelation mit den Risikofaktoren bzw. Angaben über Schlaganfall und Herzinfarkt ersichtlich (alle p-Werte $> 0,05$).

Gruppierte Korrelation

Es wurden nur diejenigen Patienten, die für beide Autoantikörper (AT1R- **UND** ETAR-Antikörper $> 2,5$) positive Titer aufwiesen, eingeschlossen ($n=99$). 62 von 200 Patienten waren für keinen der beiden Autoantikörper positiv. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8a für die Einfachpositivgruppe und in Tabelle 8b für die Hochpositivgruppe dargestellt.

Tabelle 8a: Gruppierte Korrelation (AT1R und ETAR > 2,5) mit ausgesuchten Laborwerten (Einfachpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ- und Einfachpositivgruppe

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2,5 (n=62)	> 2,5 (n=99)	p1
AT1R	Einheit	4,08 (<2,5-7,26)	/	7,25 (5,64-9,52)	/
ETAR	Einheit	3,41 (<2,5-5,68)	/	5,72 (4,29-8,88)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,50 (1,23-2,22)	1,49 (1,14-2,04)	0,64
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,21-5,79)	4,93 (3,99-5,67)	0,604
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,89 (2,27-4,00)	2,74 (2,15-3,46)	0,423
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,22 (1,05-1,44)	1,16 (0,99-1,47)	0,509
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	7,35 (1,70-16,5)	6,2 (1,8-24,5)	0,956
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,9 (6,25-10,05)	8,39 (7,1-11,2)	0,038
Harnstoff	umol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,1 (4,67-9,22)	6,1 (4,7-8,5)	0,884
Harnsäure	umol/l	364 (295-450)	372 (313-444)	356 (283-462)	0,49
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,13 (0,96-1,29)	1,09 (0,96-1,24)	0,498
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,2 (5,9-6,7)	6,3 (5,9-7,2)	0,195

Tabelle 8b: Gruppierte Korrelation (AT1R und ETAR > 2,5) mit ausgesuchten Laborwerten (Hochpositivgruppe)

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p2-Wert in der Gesamtkohorte, Negativ- und Hochpositivgruppe

Variable	Einheit	Gesamtkohorte (n=200)	≤ 2,5 (n=62)	> 75% Perzentile (n=25)	p2
AT1R	Einheit	4,08 (<2,5-7,26)	/	12,55 (10,32-17,89)	/
ETAR	Einheit	3,41 (<2,5-5,68)	/	12,38 (9,75-18,8)	/
Triglyzeride	mmol/l	1,51 (1,23-2,10)	1,50 (1,23-2,22)	1,45 (1,25-2,39)	0,87
Cholesterin	mmol/l	4,89 (4,01-5,80)	4,87 (4,21-5,79)	5,48 (4,59-6,62)	0,082
LDL	mmol/l	2,75 (2,14-3,54)	2,89 (2,27-4,00)	3,19 (2,56-4,05)	0,183
HDL	mmol/l	1,2 (1,00-1,47)	1,22 (1,05-1,44)	1,34 (1,01-1,51)	0,596
CRP	mg/l	6,65 (1,90-27,17)	7,35 (1,70-16,5)	3,70 (1,60-14,90)	0,315
Leukozyten	gpt/l	8,2 (6,60-10,90)	7,9 (6,25-10,05)	7,90 (6,8-9,45)	0,966
Harnstoff	umol/l	6,20 (4,70-8,95)	6,1 (4,67-9,22)	6,2 (4,7-9,45)	0,966
Harnsäure	umol/l	364 (295-450)	372 (313-444)	356 (294-461)	0,736
Phosphat	mmol/l	1,10 (0,95-1,28)	1,13 (0,96-1,29)	1,07 (0,94-1,29)	0,511
HbA1c	%	6,2 (5,9-7,1)	6,2 (5,9-6,7)	6,3 (5,75-6,6)	0,736

Die Level der Autoantikörper lagen in dieser gruppierten Analyse etwas höher als in der Einzelbetrachtung: in der AT1R-Gruppe bei 7,25 (5,64-9,52), in der ETAR-Gruppe bei 5,72 (4,29-8,88) Einheiten. Es wurde erneut eine hoch positive Gruppe gebildet, in der nur Patienten eingeschlossen wurden, bei denen beide Autoantikörpertiter über der 75. Perzentile lagen (AT1R > 9,0 und ETAR > 7,92). Dazu gehörten 25 Patienten (n=25, siehe Tabelle 8b). Bei ihnen lag der Mittelwert der Titer bei 12,55 (10,32-17,89) für AT1R-Autoantikörper und bei 12,38 (9,75-18,8) Einheiten für ETAR-Autoantikörper. Die Patienten mit Titern oberhalb der 75. Perzentile für beide Autoantikörper wurden der Gruppe mit negativen Autoantikörpertitern gegenübergestellt (p2-Werte).

Unter den Fettstoffwechselfparametern zeigten sich tendenziell höhere Serumcholesterolwerte in der Gruppe der hoch positiven Patienten (Gruppe 3; p₂=0,082).

Beim Betrachten der Entzündungswerte zeigte sich der Korrelationskoeffizient für die Leukozytenzahl in der Gruppe mit einfach positiven (Gruppe 2) höher gegenüber der Autoantikörper-negativen Gruppe (Gruppe 1) ($p_1=0,038$). Bei der Korrelation der Titer von Patienten aus der Gruppe 3 (hoch positiv für beide Rezeptorautoantikörper) mit den Leukozytenzahlen ergab sich keine signifikante Erhöhung im Vergleich zur Gruppe 1 ($p_2=0,96$).

Auch die vergleichenden Analysen zwischen Autoantikörpertitern der Gruppe 2 ($p_1=0,96$) und Gruppe 3 ($p_2=0,32$) und CRP-Serumspiegeln ergaben keinen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zu Gruppe 1.

Des Weiteren korrelierten die Harnsäurewerte beim Vergleich der Autoantikörper-negativen Gruppe weder mit der einfach positiven ($p_1=0,49$) noch mit der hoch positiven Gruppe ($p_2=0,74$).

In weiteren Analysen wurden Gruppen mit auffälligem kardiovaskulärem Risikoprofil bzw. dem Fehlen von auffälligen Parametern oder diesbezüglich leerer Anamnese gebildet. Es wurden Korrelationen für Diabetes mellitus Typ 2, arterielle Hypertension, Koronare Herzerkrankung und Nikotinabusus oder kardiovaskuläre Ereignisse (Herzinfarkt oder Schlaganfall) erstellt. (siehe Tabelle 9a für die Einfachpositivgruppe und 9b für die Hochpositivgruppe).

Tabelle 9a: Gruppierete Korrelation mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte	AT1R und ETAR ≤ 2.5 (n=62)	AT1R und ETAR > 2.5 (n=99)	p1
Geschlecht	m=156, w=44	m=53, w=9	m=76, w=23	0,177
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=22, Nein=40	Ja=47, Nein=52	0,135
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=56, Nein=6	Ja=83, Nein=16	0,244
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=48, Nein=14	Ja=81, Nein=18	0,744
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=54, Nein=8	Ja=80, Nein=19	0,299
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=25, Nein=37	Ja=48, Nein=51	0,311
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=14, Nein=48	Ja=26, Nein=73	0,599
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=11, Nein=51	Ja=16, Nein=83	0,794

Tabelle 9b: Gruppierte Korrelation mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe)

Variable	Gesamtkohorte	AT1R und ETAR \leq 2.5 (n=62)	At1R und ETAR > 75% Perzentile (n=25)	p2
Geschlecht	m=156, w=44	m=53, w=9	m=16, w=9	0,025
Diabetes mellitus	Ja=86, Nein=114	Ja=22, Nein=40	Ja=12, Nein=13	0,279
Rauchen	Ja=172, Nein=28	Ja=56, Nein=6	Ja=19, Nein=6	0,08
Dyslipoproteinämie	Ja=162, Nein=38	Ja=48, Nein=14	Ja=22, Nein=3	0,374 ¹
Arterieller Hypertonus	Ja=167, Nein=33	Ja=54, Nein=8	Ja=20, Nein=5	0,401
KHK	Ja=86, Nein=114	Ja=25, Nein=37	Ja=12, Nein=13	0,512
AMI	Ja=49, Nein=151	Ja=14, Nein=48	Ja=8, Nein=17	0,36
Schlaganfall	Ja=34, Nein=166	Ja=11, Nein=51	Ja=6, Nein=19	0,505

Legende: ¹ Exakter Test nach Fisher, da $n < 5$

Auch hier zeigte sich ein Trend zu höheren Autoantikörpertitern in der Hochpositivgruppe in Bezug auf das Geschlecht. Beim Betrachten der Risikofaktoren zeigte sich, dass es in der Positivgruppe weniger Raucher gibt ($p=0,08$).

Es konnte keine Gruppe ausgemacht werden, in der fortgeschrittene Atherosklerose und das Fehlen von traditionellen Risikofaktoren mit einem erhöhten Titer von Autoantikörpern gegen Angiotensin II Typ 1- oder Endothelin-1 Typ A-Rezeptoren einhergeht.

3.3.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede

In der Patientenkohorte befanden sich deutlich mehr männliche als weibliche Patienten. Tabelle 10 fasst die epidemiologische Verteilung der erfassten Daten in Bezug auf das Geschlecht zusammen.

Tabelle 10: Epidemiologische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten

Variable	Weiblich (n=44)	Männlich (n=156)	p-Wert
Alter (Median)	70	67	0,09
(p)AVK insgesamt	40	143	0,874
(p)AVK Stadium 1	0	1	-
(p)AVK Stadium 2a	2	11	-
(p)AVK Stadium 2b	20	68	-
(p)AVK Stadium 3	7	15	-
(p)AVK Stadium 4	12	47	-
(Teil-) Amputation	4	18	0,788 ¹
Rauchen	29	143	0,0001
Arterieller Hypertonus	42	125	0,016
Diabetes mellitus	18	88	0,751
Dyslipoproteinämie	41	121	0,02
BMI (Median)	27,6	27,7	0,47
KHK	18	68	0,751
AMI	9	40	0,48
Schlaganfall	12	22	0,04
Autoimmunerkrankung	3	7	0,436 ¹

Legende: ¹ Exakter Test nach Fisher, da $n < 5$

Es zeigte sich, dass Männer häufiger Zigaretten konsumieren ($p=0,0001$), häufiger unter einer Dyslipoproteinämie ($p=0,02$) und einer arteriellen Hypertonie ($p=0,016$) leiden und häufiger von einem Schlaganfall ($p=0,04$) betroffen waren. Frauen hingegen sind häufiger von einer arteriellen Hypertonie betroffen ($p=0,016$). Alle anderen Parameter zeigten keinen signifikanten, geschlechtsspezifischen Unterschied.

Laborwerte

Die Tabelle 11 gibt den Median und die 25./75. Perzentile der erfassten Laborwerte für Frauen ($n=44$) und Männer ($n=156$) der untersuchten Kohorte an. Der p-Wert zeigt den Korrelationsgrad der berechneten Medianwerte jeweils bei Männern und Frauen (Spearman Test).

Tabelle 11: Geschlechtsunterschiede Laborwerte

Angegeben ist der Median, die 25.-75. Perzentile und der p-Wert.

Variable	Einheit	Weiblich (n=44)	Männlich (n=156)	p-Wert
Triglyzeride	mmol/l	1,65 (1,23-2,39)	1,51 (1,23-2,07)	0,947
Cholesterin	mmol/l	5,41 (4,59-6,75)	4,82 (3,95-5,68)	0,002
LDL	mmol/l	3,07 (2,47-4,51)	2,68 (2,05-3,43)	0,005
HDL	mmol/l	1,37 (1,0-1,74)	1,17 (1,0-1,41)	0,036
CRP	mg/l	6,0 (1,35-12,83)	7,85 (2,23-29,25)	0,15
Leukozyten	gpt/l	7,8 (6,35-9,75)	8,3 (6,98-10,9)	0,12
Kreatinin	µmol/l	68,5 (58,75-103,0)	92,5 (74,25-130,25)	0,002
Harnstoff	µmol/l	6,15 (4,23-7,73)	6,25 (4,83-9,3)	0,282
Harnsäure	µmol/l	336,5 (259,0-407,75)	372,0 (307,0-457,5)	0,021
Phosphat	mmol/l	1,17 (1,07-1,31)	1,09 (0,95-1,27)	0,038
HbA1c	%	6,15 (5,93-6,78)	6,2 (5,9-7,1)	0,86

Beim Betrachten der erfassten Laborparameter fielen geschlechtsspezifische Besonderheiten des Lipidstatus auf. Erhöhte Blutfettwerte gelten als einer der klassischen Risikofaktoren für die Entwicklung einer Atherosklerose. Die Ergebnisse zeigten bei den Frauen der Kohorte höhere Cholesterolwerte ($p=0,002$). Weiterhin fand sich bei den weiblichen Patienten ein signifikant höheres LDL-Cholesterin ($p=0,005$) und niedrigere Harnsäurewerte ($p=0,021$). Eine Erklärung dafür könnten die unterschiedlichen Referenzwerte sein. Allerdings war auch das HDL-Cholesterin ($p=0,036$), welches im Gegensatz zum LDL-Cholesterin als atheroprotektiv gilt, bei den Frauen erhöht.

Die Betrachtung der Entzündungswerte erbrachte keine geschlechtsspezifischen Unterschiede. Das CRP ($p=0,15$) und die Leukozytenzahl ($p=0,12$) waren im Vergleich zu den männlichen Patienten statistisch gesehen nicht signifikant unterschiedlich.

Der HbA1c-Wert war bei den Männern etwas höher als bei den Frauen, zeigte aber keinen statistisch signifikanten Unterschied ($p=0,86$).

Verteilung der AT1R und ETAR-Autoantikörpertiter

Es konnte festgestellt werden, dass Frauen häufiger positiv auf Rezeptor-Autoantikörper getestet wurden als Männer. Bei den weiblichen Patienten wurden in 68,2% der Fälle AT1R-Autoantikörper detektiert. Das entsprach 30 von 44 Frauen. Bei den männlichen Patienten waren 93 von 156 Patienten hinsichtlich der Rezeptorantikörper positiv.

Das entsprach 59,6%. Auch bei den Titern für ETAR-Autoantikörper zeigte sich diese Tendenz: 63,6% der Frauen (28/44) und nur 55,1% (86/156) der Männer waren positiv.

Statistisch gesehen gab es jedoch nicht mehr Frauen als Männer, die positiv für AT1R-Autoantikörper ($p=0,27$) oder ETAR-Autoantikörper ($p=0,28$) waren. Allerdings wiesen Frauen insgesamt deutlich höhere Titer der untersuchten Autoantikörper auf.

Tabelle 12a zeigt den Median und die 25./75. Perzentile für den AT1R-Autoantikörper und die Tabelle 12b den Median und die 25./75. Perzentile für ETAR-Autoantikörper jeweils für Männer und Frauen im Vergleich zur Gesamtkohorte für die Einfachpositivgruppe.

Tabelle 12a: Geschlechtsunterschiede im Median und 25.-75. Perzentile für AT1R-Autoantikörpertiter (Einfachpositivgruppe)

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Einfachpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite AT1R > 2,5	Gesamt	AT1R > 2.5	p1
Gesamtkohorte (n=200)	2,61-40	4,08 (< 2,5-7,26)	6,45 (4,78-9,0)	
Frauen (n=44)	2,9-40	5,55 (2,5-9,03)	7,35 (5,43-11,65) n=30	0,27
Männer (n=156)	2,61-32,95	3,93(2,5-6,77)	6,3 (4,65-8,49) n=93	

Der Median für die AT1R-Autoantikörper bei Frauen lag bei 7,35 (25./75. Perzentile: 5,43-11,65) Einheiten mit einer Streuung zwischen 2,9 und 40 Einheiten. Bei den Männern war die Streuung enger mit Werten zwischen 2,61-32,95 Einheiten, mit einem Median von 6,3 (4,65-8,49) Einheiten.

Tabelle 12b: Geschlechtsunterschiede im Median und 25.-75. Perzentile für ETAR-Autoantikörpertiter (Einfachpositivgruppe)

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Einfachpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite ETAR > 2,5	Gesamt	ETAR > 2.5	p1
Gesamtkohorte (n=200)	2,51-40	3,41 (<2,5-5,68)	5,07 (4,02-7,92)	
Frauen (n=44)	2,6-40	4,0 (2,5-7,15)	5,73 (4,0-12,31) n=28	0,28
Männer (n=156)	2,51-35,4	3,14 (2,5-5,2)	4,96 (4,0-7,33) n=86	

Bei Betrachtung der ETAR-Autoantikörper bei Frauen zeigte sich auch hier ein höherer Mittelwert von 5,73 (4,0-12,31) Einheiten bei einer breiten Streuung zwischen 2,6-40

Einheiten. Im Vergleich zeigte sich der Titer bei Männern enger gestreut (2,51-35,4) und mit niedrigerem Median von 4,96 (4,0-7,33) Einheiten.

Tabellen 13a-d zeigen die Geschlechtsunterschiede in der Gruppe, die für beide Autoantikörper positiv waren (ATT1R und ETAR > 2,5) für die „einfach positive“ Gruppe 2 und hoch positiven Patienten (Gruppe 3) für AT1R (Tabelle 13a und 13b) und für ETAR (Tabelle 13c und 13d). Aus der Gesamtkohorte wurden hier erneut 99 Patienten eingeschlossen.

Tabelle 13a: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Einfachpositivgruppe für AT1R

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Einfachpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite	AT1R und ETAR > 2.5	p1
Gesamt (n=99)	2,9-32,95	7,25 (5,64-9,52)	
Frauen (n=23)	2,9-40	8,62 (6,81-15,53)	0,02
Männer (n=76)	2,61-32,95	6,71 (5,30-9,05)	

Tabelle 13b: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Hochpositivgruppe für AT1R

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Hochpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite	AT1R und ETAR > 75% Perzentile	p2
Gesamt (n=25)	2,9-32,95	12,55 (10,32-17,89)	
Frauen (n=9)	2,9-40	15,53 (11,95-29,16)	0,027
Männer (n=16)	2,61-32,95	10,96 (9,82-16,45)	

Tabelle 13c: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Einfachpositivgruppe für ETAR

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Einfachpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite	AT1R und ETAR > 2.5	p1
Gesamt (n=99)	2,88-40	5,72 (4,29-8,88)	
Frauen (n=23)	2,88-40	7,12 (5,05-12,6)	0,045
Männer (n=76)	2,51-35,41	5,25 (4,21-9,0)	

Tabelle 13d: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Hochpositivgruppe für ETAR

Angegeben ist die Spannweite, der Median, die 25.-75. Perzentile und der p1-Wert in der Gesamtkohorte und der Hochpositivgruppe für Männer und Frauen.

Patienten	Spannweite	AT1R und ETAR > 75% Perzentile	p2
Gesamt (n=25)	2,88-40	12,38 (9,75-18,8)	
Frauen (n=9)	2,88-40	17,98 (12,3-28,0)	0,065
Männer (n=16)	2,51-35,41	10,46 (9,67-15,52)	

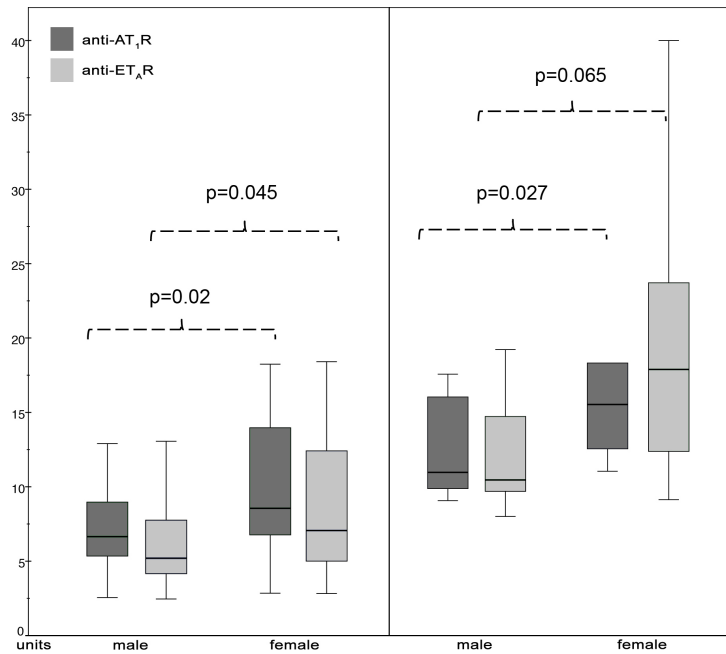
In die Korrelation wurden 23 Frauen und 76 Männer eingeschlossen.

Auch hier zeigten sich die geschlechtsspezifischen Unterschiede ebenfalls deutlich. Frauen zeigten signifikant höhere Autoantikörpertiter sowohl für die AT1R mit 8,62 (6,81-15,53) Einheiten ($p=0,02$), als auch für die ETAR mit 7,12 (5,05-12,6) Einheiten ($p=0,045$). Bei den Männern wurde ein Mittelwert von 6,71 (5,30-9,05) Einheiten für die AT1R-Autoantikörper und 5,25 (4,21-9,0) Einheiten für die ETAR-Autoantikörper berechnet.

Die Betrachtung der Gruppe der für beide Autoantikörper positiv getesteten Patienten zeigte, dass die Frauen eine breitere Streuung der Titer aufwiesen. Bei den AT1R-Autoantikörpern lag sie wie bereits beschrieben zwischen 2,9-40,0 Einheiten. Für die ETAR-Autoantikörper bei 2,88-40,0 Einheiten. Die Spannweite bei den Männern lag zwischen 2,61-32,95 (AT1R-Autoantikörper) und 2,51-35,41 (ETAR-Autoantikörper) Einheiten.

Die Tabellen 13b und 13d zeigen die Gruppe der Patienten, bei denen beide Autoantikörper oberhalb der 75. Perzentile lagen (hoch positive Gruppe; $n=25$). Hier lag der Mittelwert für die AT1R-Autoantikörper bei den Frauen bei 15,53 (11,95-29,16) Einheiten, bei den Männern bei 10,96 (9,82-16,45) Einheiten. Die Werte blieben auch hier statistisch signifikant ($p=0,027$). Bei den Autoantikörpern gegen ETAR wurde allerdings nur bei den weiblichen Patienten eine Tendenz zu höheren Werten ($p=0,065$) beobachtet.

Die geschlechtsspezifische Verteilung ist in der folgenden Boxplotgrafik veranschaulicht.



Grafik 1: Boxplot zur geschlechtsspezifischen Verteilung der Endothelin- und Angiotensinrezeptor-Autoantikörper

Grafik links: AT₁R und ET_AR > 2,5; Grafik rechts AT₁R und ET_AR > 75. Perzentile.
 Angegeben ist zusätzlich der Median und das 95%-Konfidenzintervall.

4. Diskussion

In dieser prospektiv angelegten Studie wurde eine Patientenkohorte mit nachgewiesener arterieller Verschlusskrankheit auf das Vorliegen eines Zusammenhanges zwischen der Bildung agonistischer Autoantikörper gegen AT1R und ETAR und klassischen Risikofaktoren untersucht.

Die Atherosklerose wird als chronische Entzündungsreaktion verstanden. Endotheliale Dysfunktion, Veränderungen an der Gefäßoberfläche, Dyslipidämie, Apoptose und (Auto-) Immunaktivität sind nach heutiger Meinung die wesentlichen Mechanismen, die zur Bildung atherosklerotischer Plaques an der Gefäßwand beitragen. Überdies werden modifizierte Lipoproteine als Auslöser von vaskulärer Entzündung, die Aktivierung der T-Zellen und die Produktion von Antikörpern diskutiert [20]. Eine mögliche Verbindung zwischen Antikörperbildung und kardiovaskulärem Risiko ergibt sich aus der Erkenntnis, dass Patienten mit Autoimmunerkrankungen vermehrt von kardiovaskulären Erkrankungen betroffen sind [108–110].

Aber auch bei Patienten ohne begleitende Autoimmunerkrankung gibt es Hinweise, dass verschiedenste Autoantikörper an der Athero- und Arteriosklerosebildung beteiligt sind [111,112]. Die Autoantikörper können dabei über die Aktivierung von körpereigenen Rezeptoren entweder pro- oder anti-inflammatorische Signale vermitteln. Eine Schweizer Forschergruppe bewies dies am Beispiel von Anti-Apo-1-Antikörpern. Dieser Antikörper ist gegen das auf der Oberfläche des als atheroprotektiv geltenden HDL-Lipoprotein gerichtet. Er lag in der beobachteten Patienten-Kohorte bei 21% der Patienten mit akutem Koronarsyndrom vor, aber nur bei 13% der Patienten mit Autoimmunerkrankung (SLE und/oder Antiphospholipidsyndrom) und bei nur 1% einer gesunden Vergleichsgruppe [113].

Weitere Beispiele für pro-atherosklerotische Antikörper stellen solche mit Spezifität für Phospholipide [114], Hitzeschockproteine [115] und oxidiertes LDL-Cholesterin [116] dar. Die möglichen pathophysiologischen Funktionen bestehen in der Verstärkung der endothelialen Dysfunktion sowie der Förderung einer Thrombenbildung.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass Antikörper gegen AT1R und ETAR in einer Gruppe von Patienten mit Atherosklerose nachgewiesen werden können. Dies ist die erste Studie, die über AT1R- und ETAR-Autoantikörper in einer derartigen Patientengruppe berichtet.

Weiterhin korrelierte das Vorliegen eines Antikörpers stark mit dem gleichzeitigen Vorliegen des jeweils anderen Antikörpers. Die Interkorrelation lag bei $r^2=0,79$. Die von Riemekasten et al. erstmalig beschriebene, positive Korrelation zwischen AT1R- und ETAR-Autoantikörpern bei Patienten mit systemischer Sklerose konnte also auch in dieser Arbeit bestätigt werden [100]. Die Forscher hatten überzeugend die Beteiligung der beiden Autoantikörper an den fibrotischen und vaskulären Komplikationen der systemische Bindegewebserkrankung nachweisen können. Sie könnten sogar als diagnostische und prognostische Marker für den Krankheitsverlauf dienen.

Antikörper gegen den Angiotensin II Typ 1-Rezeptor

Antikörper gegen den Angiotensin II Typ 1-Rezeptor spielen bei verschiedenen Systemerkrankungen wie der Präeklampsie und der Transplantatabstoßung eine pathophysiologische Rolle [101,104]. Neben seiner physiologischen Rolle als Gefäßkonstriktor wirkt Ang II auch als inflammatorisches Zytokin, welches an verschiedenen vaskulären Erkrankungen beteiligt ist [117]. Über den AT1R kann es durch Aktivierung des Transkriptionsfaktors *nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells* (NF κ B), eine pro-inflammatorische Zytokininvasion begünstigen, die wiederum eine vaskuläre Entzündungsreaktion hervorruft [118,119].

Es gibt überzeugende Hinweise darauf, dass der AT1R sowohl beim Tier [120], als auch beim Menschen [106] vermehrt in den von Atherosklerose betroffenen Gefäßen exprimiert wird. In einem Versuch mit humanen Koronargefäßen ließ sich eine starke Korrelation zwischen der AT1-Rezeptordichte und fortgeschrittenem Atherosklerosegrad nachweisen [106]. In der vorliegenden Studie wurden keine Gewebeproben entnommen und auf Rezeptordichte hin untersucht, daher bleibt diese Hypothese durch zukünftige Studien zu bestätigen. *In vitro* Versuche an glatten Gefäßmuskelzellen konnten eine signifikante Erhöhung der mRNA für den AT1R nach Exposition von nativem LDL aufzeigen [121].

Antikörper gegen den Endothelin-1 Typ A-Rezeptor

Aber auch Endotheline scheinen an der Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen wie der arteriellen Hypertonie oder der Atherosklerose beteiligt zu sein. Die stark vasokonstriktorische und zellproliferative Wirkung von ET-1 wird über den ETAR vermittelt [97].

Studien aus dem Bereich der Transplantationsmedizin belegen, dass neben den schon länger bekannten AT1R-Autoantikörpern auch ETAR-Autoantikörper mit einer gesteigerten Transplantatabstoßungsrate sowie einer Mikroangiopathie assoziiert sind [122,123]. Den Endothelinen wird außerdem eine Beteiligung an atherosklerotischen Prozessen zugesprochen [124,125]. Atherosklerotische Läsionen zeigen eine Hochregulierung der Endothelinrezeptoren und Patienten mit Atherosklerose weisen erhöhte ET-1 Spiegel im Blut auf. In Versuchen mit Apolipoprotein E-defizienten Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass durch ETAR-Hemmung die atherosklerotische Plaquebildung und endotheliale Dysfunktion in der Aorta reduziert werden kann [126].

Geschlechtsspezifische Unterschiede

Beim Nachweis der Autoantikörper in der untersuchten Kohorte fanden sich geschlechtsspezifische Unterschiede, die bisher nicht beschrieben sind. Diese zeigten sich dahingehend, dass Frauen häufiger positiv für beide Antikörper waren und in der Subgruppenanalyse höhere Titer aufwiesen. Wie bereits diskutiert, spielt Autoimmunität eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose. Gleichzeitig ist die Autoantikörper-gesteuerte Pathologie kennzeichnend für Autoimmunerkrankungen. Die Atherosklerose manifestiert sich häufiger bei Männern [127], Frauen leiden jedoch häufiger an Autoimmunerkrankungen, wie z.B. dem systemischen Lupus erythematoses [128,129]. Für die weibliche Prädominanz von Autoimmunerkrankungen werden verschiedenste Theorien diskutiert [130]. Als gesichert gilt die Erkenntnis, dass das Immunsystem stark durch Sexualhormone gesteuert wird. Östrogene, die wichtigsten weiblichen Sexualhormone, scheinen die B-Zellen zu aktivieren, die vermehrt Antikörper gegen körpereigene Antigene bilden [131]. Dagegen scheinen die bei Männern vorherrschenden Androgenen die B-Zellproliferation und Reifung zu hemmen. Östrogene scheinen außerdem in der Lage zu sein die Endothelinausschüttung zu beeinflussen. Ein Beispiel hierfür erbringt eine Studie an humanen Endothelzellen der Nabelvenen [132]. Es konnte gezeigt werden, dass 17-beta-Estradiol die Expression des ET-1-Gens drosselt. Diese und andere Studien lassen vermuten, dass auch die Antikörperproduktion in einer Kohorte mit von Atherosklerose betroffenen Patienten durch Sexualhormone beeinflusst wird.

In dieser Arbeit waren hohe Titer der Autoantikörper gegen AT1R und ETAR nicht assoziierbar mit einem schwereren kardiovaskulären Risikoprofil, obwohl etwa 50% der Kohorte positiv für die beiden Antikörper waren. Auch gab es keinen Unterschied in der Verteilung der klassischen Risikofaktoren, der sich dem Vorliegen oder der Verteilung der AT1R- und ETAR-Autoantikörper hätte zuschreiben lassen. Weiterhin gab es keinen Zusammenhang zwischen der Höhe der Autoantikörpertiter und kardiovaskulären Ereignissen wie Herzinfarkt und Schlaganfall. So stellt sich die Frage, ob neue und unabhängige Pathomechanismen der Gefäßbeeinträchtigung durch Autoantikörper gegen AT1R und ETAR existieren. Auch wird dadurch die weitere Unterscheidung zwischen klassischen pro-atherosklerotischen Faktoren wie Fettstoffwechselstörungen und neuen pro-atherosklerotischen Faktoren wie die Gefäßdegeneration durch B-Zell-vermittelte Mechanismen suggeriert [122,133].

Da sowohl klassische als auch autoimmune Mechanismen zur Bildung der Atherosklerose beitragen, und da einige der untersuchten Autoantikörper in der Lage zu sein scheinen, die traditionellen Risikofaktoren zu beeinflussen, ist es wahrscheinlich nicht möglich, einen unabhängigen Effekt der Autoantikörper auf das kardiovaskuläre Outcome auszumachen. Betrachtet man ihre Unabhängigkeit gegenüber den klassischen Framingham Faktoren, welche das kardiovaskuläre Outcome vorhersagen, geben die Daten aus der Literatur Hinweise darauf, dass einige dieser Antikörper in Zukunft der kardiovaskulären Risikostratifizierung dienen könnten.

Einschränkungen und Stärken der Studie

Die vorliegende Studie hat gewisse Einschränkungen. Zum einen ist sie an einem Zentrum mit begrenzter Patientenzahl durchgeführt worden und sollte in einer unabhängigen Kohorte bestätigt werden. Insbesondere ein größerer Frauenanteil in einer zukünftigen Kohorte könnte die geschlechtsspezifischen Unterschiede bestätigen oder widerlegen. Die beobachteten Tendenzen ließen sich dann vermutlich eindeutiger darstellen. Allerdings spiegelt der höhere Anteil von Männern mit (peripherer) arterieller Verschlusskrankheit eine häufig beobachtete geschlechtsspezifische Verteilung wider [134].

Zum anderen ließen sich die Ergebnisse besser einordnen, wenn eine Vergleichskohorte mit Patienten ohne arterielle Atherosklerose in die Studie eingeschlossen worden wäre.

Der Vergleich der Antikörpertiter mit denen einer gesunden altersgematchten Kohorte hätte Aufschlüsse geben können über die Relevanz der Autoantikörper.

Die Stärken dieser Studie liegen in der relativ homogenen Verteilung der Patienten, die in die Studie aufgenommen werden konnten. Dies spiegelt sich vor allem in der Verteilung der erhobenen kardiovaskulären Risikofaktoren wider.

Fazit und Ausblick

Der Nachweis beider Autoantikörper in einer Kohorte mit Gefäßerkrankungen, die abzugrenzen ist von bereits publizierten Patientengruppen anderen Phänotyps [107,135], könnte ein weiterer Beleg für die pathophysiologische Beteiligung der AT1R- und ETAR- Autoantikörper an vaskulärer Schädigung sein.

Dennoch bleiben viele Fragen offen: Es ist unklar, unter welchen Umständen es zu einer Immunisierung kommt, ob es Kreuzreaktionen der Autoantikörper mit den untersuchten antigenen Epitopen in dem Nachweisverfahren gibt und ob eine Perpetuierung der Autoantikörperbildung durch exogene Faktoren begünstigt wird. Weiterführende Studien sollten möglichst Gefäßproben beinhalten, die im Rahmen von Revaskularisierungsoperationen anfallen. Eine Färbung für Autoantikörper und die Zuordnung zu Gewebestrukturen könnten weitere Hinweise auf die Bedeutung der erhobenen Befunde geben.

5. Zusammenfassung

Die Atherosklerose ist eine chronische entzündliche Erkrankung, welche vorwiegend die großen und mittleren arteriellen Gefäße betrifft. Pathophysiologisch sind klassische Risikofaktoren wie Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Hyperurikämie neben immunologischen Faktoren bekannt. Verschiedentlich wird die immunologische, B-Zell-vermittelte Beteiligung an der Pathogenese der Athero- und Arteriosklerose durch Autoantikörper diskutiert. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig eine von einer arteriellen Verschlusskrankung betroffene Patientengruppe auf das Vorliegen von Autoantikörpern gegen Angiotensin II Typ 1- (AT1R) und Endothelin-1 Typ A-Rezeptoren (ETAR) untersucht. In das prospektiv angelegte Studienmodell wurden 200 Patienten mit angiographisch gesicherter, fortgeschrittener (p)AVK, einer isolierten aortalen/ileakalen Stenose oder einer Karotisstenose eingeschlossen. Serumproben und klinische Daten sowie Laborwerte für klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden gesammelt. Die Quantifizierung der Autoantikörper gegen die AT1- und ETA-Rezeptoren erfolgte mittels *solid phase* ELISA, bei dem die Konformationsepitope der Rezeptoren in chinesischen Hamsterzellen exprimiert und auf den Platten ge-coated waren. Die Autoantikörper wurden als relative *units* angegeben. Es erfolgte eine Korrelationsanalyse mit laborchemischen Parametern (Harnsäure, eGFR, HDL-/LDL-Cholesterin, CRP, Leukozyten). Die Autoantikörpertiter oberhalb der Sensitivitätsgrenze (2,5 Einheiten/ml) waren in 57% der Fälle positiv für ETAR. Erhöhte Titer gegen den AT1R lagen in 61,5% der Fälle vor. Bei etwa der Hälfte der eingeschlossenen Probanden (50%) lagen Autoantikörper gegen beide Rezeptoren vor. Es zeigten sich geschlechtsspezifische Unterschiede in der Verteilung der Autoantikörpertiter: Die Titer für beide Autoantikörper waren bei den Frauen häufiger positiv und die Frauen zeigten in der Untergruppenanalyse höhere Autoantikörpertiter (AT1R: $p=0,02$; ETAR: $p=0,045$). Korrelative Analysen der Autoantikörper mit klassischen Risikofaktoren und entsprechenden Laborparametern ergaben, dass das Vorliegen und die Höhe der Autoantikörpertiter nicht durch sie beeinflusst werden. Diese Arbeit eröffnet eine neue Sichtweise auf immunologisch vermittelte Prozesse bei der Pathophysiologie der (p)AVK. Sie beleuchtet Autoantikörper gegen funktionelle Oberflächenrezeptoren, deren Vorkommen und Titerhöhe unabhängig von den klassischen Risikofaktoren zu sein scheinen.

Literaturverzeichnis

1. Ademi Z., Liew D., Zomer E., Gorelik A. et al.: Outcomes and excess costs among patients with cardiovascular disease. *Heart Lung Circ* 22 724-730 (2013)
2. Ostchega Y., Paulose-Ram R., Dillon C.F., Gu Q., Hughes J.P.: Prevalence of peripheral arterial disease and risk factors in persons aged 60 and older: data from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. *J Am Geriatr Soc* 55 583-589 (2007)
3. Murabito J.M., Evans J.C., Nieto K., Larson M.G. et al.: Prevalence and clinical correlates of peripheral arterial disease in the Framingham Offspring Study. *Am Heart J* 143 961-965 (2002)
4. Ankle Brachial Index Collaboration Authors F. G. R. Fowkes, G. D. Murray, I. Butcher: Ankle Brachial Index Combined With Framingham Risk Score to Predict Cardiovascular Events and Mortality. *JAMA* 300 197 (2008)
5. Hirsch A.T., Criqui M.H., Treat-Jacobson D., Regensteiner J.G. et al.: Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA* 286 1317-1324 (2001)
6. Cacoub P.P., Abola M.T.B., Baumgartner I., Bhatt D.L. et al.: Cardiovascular risk factor control and outcomes in peripheral artery disease patients in the Reduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. *Atherosclerosis* 204 e86 (2009)
7. Ambrosetti M., Temporelli P.L., Faggiano P., Febo O. et al.: Lower extremities peripheral arterial disease among patients admitted to cardiac rehabilitation: The THINKPAD registry. *International Journal of Cardiology* (2013)
8. Malyar N., Fürstenberg T., Wellmann J., Meyborg M. et al.: Recent trends in morbidity and in-hospital outcomes of in-patients with peripheral arterial disease: a nationwide population-based analysis. *European heart journal* 34 2706-2714 (2013)
9. Hiatt W.R.: Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 344 1608-1621 (2001)
10. McDermott M.M., Applegate W.B., Bonds D.E., Buford T.W. et al.: Ankle brachial index values, leg symptoms, and functional performance among community-dwelling older men and women in the lifestyle interventions and independence for elders study. *J Am Heart Assoc* 2 e000257 (2013)

11. Allison M.A., Ho E., Denenberg J.O., Langer R.D. et al.: Ethnic-specific prevalence of peripheral arterial disease in the United States. *Am J Prev Med* 32 328-333 (2007)
12. Agarwal A.K., Singh M., Arya V., Garg U. et al.: Prevalence of peripheral arterial disease in type 2 diabetes mellitus and its correlation with coronary artery disease and its risk factors. *J Assoc Physicians India* 60 28-32 (2012)
13. He M., Qin X., Cui Y., Cai Y. et al.: Prevalence of unrecognized lower extremity peripheral arterial disease and the associated factors in chinese hypertensive adults. *Am J Cardiol* 110 1692-1698 (2012)
14. Diehm C., Allenberg J.R., Pittrow D., Mahn M. et al.: Mortality and vascular morbidity in older adults with asymptomatic versus symptomatic peripheral artery disease. *Circulation* 120 2053-2061 (2009)
15. Kontush A.: HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. *Cardiovascular research* 103 341-349 (2014)
16. Wan Ahmad, Wan Nor Hanis, Sakri F., Mokhsin A., Rahman T. et al.: Low Serum High Density Lipoprotein Cholesterol Concentration is an Independent Predictor for Enhanced Inflammation and Endothelial Activation. *PloS one* 10 e0116867 (2015)
17. Sharpe L.J., Cook, Emma C L, Zelcer N., Brown A.J.: The UPS and downs of cholesterol homeostasis. *Trends in biochemical sciences* 39 527-535 (2014)
18. Ross R., Glomset J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 295 369-377 (1976)
19. Rafieian-Kopaei M., Setorki M., Douidi M., Baradaran A., Nasri H.: Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *International journal of preventive medicine* 5 927-946 (2014)
20. Hansson G.K., Hermansson A.: The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 12 204-212 (2011)
21. Napoli C., D'Armiento F.P., Mancini F.P., Postiglione A. et al.: Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 100 2680-2690 (1997)

22. Tabas I., Williams K.J., Boren J.: Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis: Update and Therapeutic Implications. *Circulation* 116 1832-1844 (2007)
23. Drechsler M., Soehnlein O.: The complexity of arterial classical monocyte recruitment. *Journal of innate immunity* 5 358-366 (2013)
24. Mitroulis I., Alexaki V.I., Kourtzelis I., Ziogas A. et al.: Leukocyte integrins: Role in leukocyte recruitment and as therapeutic targets in inflammatory disease. *Pharmacology & therapeutics* (2014)
25. Peter Libby: Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420 868-874 (2002)
26. Joosten M.M., Pai J.K., Bertola M.L., Rimm E.B. et al.: Associations between conventional cardiovascular risk factors and risk of peripheral artery disease in men. *JAMA* 308 1660-1667 (2012)
27. Kanbay M., Segal M., Afsar B., Kang D.-H. et al.: The role of uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease. *Heart (British Cardiac Society)* 99 759-766 (2013)
28. Lee J.-K., Ryoo J.-H., Choi J.-M., Park S.K.: Serum Uric Acid Level and the Incidence of Metabolic Syndrome in Middle-aged Korean Men: A 5-Year Follow-up Study. *Journal of preventive medicine and public health = Yebang Ŭihakhoe chi* 47 317-326 (2014)
29. Wu W.-X., Ren M., Cheng H., Li Y. et al.: Prevention of macrovascular disease in patients with short-duration type 2 diabetes by multifactorial target control: an 8-year prospective study. *Endocrine* (2014)
30. Dormandy J., Heeck L., Vig S.: Predicting which patients will develop chronic critical leg ischemia. *Semin Vasc Surg* 12 138-141 (1999)
31. Tabara Y., Muro S., Takahashi Y., Setoh K. et al.: Airflow limitation in smokers is associated with arterial stiffness: The Nagahama Study. *Atherosclerosis* 232 59-64 (2014)
32. Wattanakit K., Folsom A.R., Selvin E., Weatherley B.D. et al.: Risk factors for peripheral arterial disease incidence in persons with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Atherosclerosis* 180 389-397 (2005)

33. Tapp R.J., Balkau B., Shaw J.E., Valensi P. et al.: Association of glucose metabolism, smoking and cardiovascular risk factors with incident peripheral arterial disease: the DESIR study. *Atherosclerosis* 190 84-89 (2007)
34. Gerstein H.C., Miller M.E., Ismail-Beigi F., Largay J. et al.: Effects of intensive glycaemic control on ischaemic heart disease: analysis of data from the randomised, controlled ACCORD trial. *Lancet* 384 1936-1941 (2014)
35. Zhao W., Katzmarzyk P.T., Horswell R., Wang Y. et al.: HbA1c and Lower-Extremity Amputation Risk in Low-Income Patients With Diabetes. *Diabetes Care* 36 3591-3598 (2013)
36. Lehto S., Ronnemaa T., Pyorala K., Laakso M.: Risk factors predicting lower extremity amputations in patients with NIDDM. *Diabetes Care* 19 607-612 (1996)
37. Selvin E., Erlinger T.P.: Prevalence of and risk factors for peripheral arterial disease in the United States: results from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2000. *Circulation* 110 738-743 (2004)
38. Newman A.B., Sutton-Tyrrell K., Rutan G.H., Locher J., Kuller L.H.: Lower extremity arterial disease in elderly subjects with systolic hypertension. *J Clin Epidemiol* 44 15-20 (1991)
39. Garg P.K., Biggs M.L., Carnethon M., Ix J.H. et al.: Metabolic syndrome and risk of incident peripheral artery disease: the cardiovascular health study. *Hypertension* 63 413-419 (2014)
40. Li J.-J., Chen J.-L.: Inflammation may be a bridge connecting hypertension and atherosclerosis. *Medical hypotheses* 64 925-929 (2005)
41. UK Prospective Diabetes Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ (Clinical research ed.)* 317 703-713 (1998)
42. Sirimarco G., Labreuche J., Bruckert E., Goldstein L.B. et al.: Atherogenic Dyslipidemia and Residual Cardiovascular Risk in Statin-Treated Patients. *Stroke* (2014)
43. Weber C., Noels H.: Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 17 1410-1422 (2011)

44. Zhou X., Nicoletti A., Elhage R., Hansson G.K.: Transfer of CD4⁺ T Cells Aggravates Atherosclerosis in Immunodeficient Apolipoprotein E Knockout Mice. *Circulation* 102 2919-2922 (2000)
45. Lee T.S., Yen H.C., Pan C.C., Chau L.Y.: The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 734-742 (1999)
46. Caligiuri G., Nicoletti A., Poirier B., Hansson G.K.: Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest* 109 745-753 (2002)
47. Major A.S., Fazio S., Linton M.F.: B-lymphocyte deficiency increases atherosclerosis in LDL receptor-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22 1892-1898 (2002)
48. Kyaw T., Tay C., Khan A., Dumouchel V. et al.: Conventional B2 B cell depletion ameliorates whereas its adoptive transfer aggravates atherosclerosis. *J Immunol* 185 4410-4419 (2010)
49. Ait-Oufella H., Herbin O., Bouaziz J.-D., Binder C.J. et al.: B cell depletion reduces the development of atherosclerosis in mice. *Journal of Experimental Medicine* 207 1579-1587 (2010)
50. Urowitz M.B., Bookman A.A., Koehler B.E., Gordon D.A. et al.: The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 60 221-225 (1976)
51. Erdozain J.G., Villar I., Nieto J., Ruiz-Irastorza G.: Peripheral arterial disease in systemic lupus erythematosus: prevalence and risk factors. *The Journal of rheumatology* 41 310-317 (2014)
52. Stamatelopoulos K.S., Kitas G.D., Papamichael C.M., Kyrkou K. et al.: Subclinical peripheral arterial disease in rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 212 305-309 (2010)
53. Rooke T.W., Hirsch A.T., Misra S., Sidawy A.N. et al.: 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guideline for the Management of Patients With Peripheral Artery Disease (Updating the 2005 Guideline). *Journal of the American College of Cardiology* 58 2020-2045 (2011)
54. Burnet F.M.: The clonal selection theory of acquired immunity. Cambridge Univ. Press, Cambridge 1959

55. Nemazee D., Buerki K.: Clonal deletion of autoreactive B lymphocytes in bone marrow chimeras. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 8039-8043 (1989)
56. Nemazee D.A., Burki K.: Clonal deletion of B lymphocytes in a transgenic mouse bearing anti-MHC class I antibody genes. *Nature* 337 562-566 (1989)
57. Hagerty D.T., Evavold B.D., Allen P.M.: The processing and presentation of the self-antigen hemoglobin. Self-reactivity can be limited by antigen availability and costimulator expression. *J Immunol* 147 3282-3288 (1991)
58. Iglesias A.: Maintenance and loss of self-tolerance in B cells. *Springer Semin. Immunopathol.* 23 351-366 (2001)
59. Allen P.M.: Defining yourself: tolerance development in the immune system. *J Immunol* 177 1369-1372 (2006)
60. Mackay I.R., Rosen F.S., Davidson A., Diamond B.: Autoimmune Diseases. *N Engl J Med* 345 340-350 (2001)
61. Caturegli P., Remigis A. de, Rose N.R.: Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity reviews* 13 391-397 (2014)
62. Jacob N., Stohl W.: Autoantibody-dependent and autoantibody-independent roles for B cells in systemic lupus erythematosus: past, present, and future. *Autoimmunity* 43 84-97 (2010)
63. Borba E.F., Araujo D.B., Bonfá E., Shinjo S.K.: Clinical and immunological features of 888 Brazilian systemic lupus patients from a monocentric cohort: comparison with other populations. *Lupus* 22 744-749 (2013)
64. Järås K., Anderson K.: Autoantibodies in cancer: prognostic biomarkers and immune activation. *Expert review of proteomics* 8 577-589 (2011)
65. Andersen-Ranberg K., Høier-Madsen M., Wiik A., Jeune B., Hegedus L.: High prevalence of autoantibodies among Danish centenarians. *Clinical and experimental immunology* 138 158-163 (2004)
66. Spehr M., Munger S.D.: Olfactory receptors: G protein-coupled receptors and beyond. *Journal of neurochemistry* 109 1570-1583 (2009)
67. Kinnamon S.C.: Taste receptor signalling - from tongues to lungs. *Acta physiologica (Oxford, England)* 204 158-168 (2012)

68. Ji T.H., Grossmann M., Ji I.: G protein-coupled receptors. I. Diversity of receptor-ligand interactions. *J Biol Chem* 273 17299-17302 (1998)
69. Braun-Menendez E., Fasciolo J.C., Leloir L.F., Munoz J.M.: The substance causing renal hypertension. *J Physiol* 98 283-298 (1940)
70. Basso N., Terragno N.A.: History about the discovery of the renin-angiotensin system. *Hypertension* 38 1246-1249 (2001)
71. Zhuo J.L., Ferrao F.M., Zheng Y., Li X.C.: New frontiers in the intrarenal Renin-Angiotensin system: a critical review of classical and new paradigms. *Front Endocrinol (Lausanne)* 4 166 (2013)
72. Ganten D., Schelling P., Vecsei P., Ganten U.: Iso-renin of extrarenal origin. "The tissue angiotensinogenase systems". *Am J Med* 60 760-772 (1976)
73. Lavoie J.L., Sigmund C.D.: Minireview: overview of the renin-angiotensin system--an endocrine and paracrine system. *Endocrinology* 144 2179-2183 (2003)
74. Fitzsimons J.T.: Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev* 78 583-686 (1998)
75. Wenzel U.O., Krebs C., Benndorf R.: The angiotensin II type 2 receptor in renal disease. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS* 11 37-41 (2010)
76. Huckle W.R., Earp H.S.: Regulation of cell proliferation and growth by angiotensin II. *Prog Growth Factor Res* 5 177-194 (1994)
77. Gasparo M. de, Catt K.J., Inagami T., Wright J.W., Unger T.: International union of pharmacology. XXIII. The angiotensin II receptors. *Pharmacol Rev* 52 415-472 (2000)
78. Chiu A.T., Herblin W.F., McCall D.E., Ardecky R.J. et al.: Identification of angiotensin II receptor subtypes. *Biochem Biophys Res Commun* 165 196-203 (1989)
79. Furuta H., Guo D.F., Inagami T.: Molecular cloning and sequencing of the gene encoding human angiotensin II type 1 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 183 8-13 (1992)

80. Nakajima M., Hutchinson H.G., Fujinaga M., Hayashida W. et al.: The angiotensin II type 2 (AT2) receptor antagonizes the growth effects of the AT1 receptor: gain-of-function study using gene transfer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92 10663-10667 (1995)
81. Kaschina E., Unger T.: Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function. *Blood Press* 12 70-88 (2003)
82. Clement M., Cabana J., Holleran B.J., Leduc R. et al.: Activation induces structural changes in the liganded angiotensin II type 1 receptor. *J Biol Chem* 284 26603-26612 (2009)
83. Daugherty A., Manning M.W., Cassis L.A.: Angiotensin II promotes atherosclerotic lesions and aneurysms in apolipoprotein E-deficient mice. *The Journal of clinical investigation* 105 1605-1612 (2000)
84. Keidar S.: Angiotensin, LDL peroxidation and atherosclerosis. *Life Sciences* 63 1-11 (1998)
85. Inoue A., Yanagisawa M., Kimura S., Kasuya Y. et al.: The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*.2863-2867 (1989)
86. Ohkita M., Tawa M., Kitada K., Matsumura Y.: Pathophysiological roles of endothelin receptors in cardiovascular diseases. *J Pharmacol Sci* 119 302-313 (2012)
87. Li M.W., Mian, Muhammad Oneeb Rehman, Barhoumi T., Rehman A. et al.: Endothelin-1 overexpression exacerbates atherosclerosis and induces aortic aneurysms in apolipoprotein E knockout mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 33 2306-2315 (2013)
88. Takahashi M., Matsushita Y., Iijima Y., Tanzawa K.: Purification and characterization of endothelin-converting enzyme from rat lung. *J Biol Chem* 268 21394-21398 (1993)
89. Boulanger C., Luscher T.F.: Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 85 587-590 (1990)
90. Imai T., Hirata Y., Emori T., Yanagisawa M. et al.: Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. *Hypertension* 19 753-757 (1992)
91. Hu J., Discher D.J., Bishopric N.H., Webster K.A.: Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 binding site on the antisense strand. *Biochem Biophys Res Commun* 245 894-899 (1998)

92. Pisarcik S., Maylor J., Lu W., Yun X. et al.: Activation of hypoxia-inducible factor-1 in pulmonary arterial smooth muscle cells by endothelin-1. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology* 304 L549-61 (2013)
93. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y. et al.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332 411-415 (1988)
94. Schneider M.P., Boesen E.I., Pollock D.M.: Contrasting actions of endothelin ET(A) and ET(B) receptors in cardiovascular disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 47 731-759 (2007)
95. Arai H., Hori S., Aramori I., Ohkubo H., Nakanishi S.: Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 348 730-732 (1990)
96. Haendler B., Hechler U., Schleuning W.D.: Molecular cloning of human endothelin (ET) receptors ETA and ETB. *J Cardiovasc Pharmacol* 20 Suppl 12 S1-4 (1992)
97. Shirai N., Naruko T., Ohsawa M., Ikura Y. et al.: Expression of endothelin-converting enzyme, endothelin-1 and endothelin receptors at the site of percutaneous coronary intervention in humans. *J Hypertens* 24 711-721 (2006)
98. Seo B., Oemar B.S., Siebenmann R., Segesser L. von, Luscher T.F.: Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels. *Circulation* 89 1203-1208 (1994)
99. Remuzzi G., Perico N., Benigni A.: New therapeutics that antagonize endothelin: promises and frustrations. *Nat Rev Drug Discov* 1 986-1001 (2002)
100. Riemekasten G., Philippe A., Nather M., Slowinski T. et al.: Involvement of functional autoantibodies against vascular receptors in systemic sclerosis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 70 530-536 (2011)
101. Wallukat G., Homuth V., Fischer T., Lindschau C. et al.: Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest* 103 945-952 (1999)
102. Jensen F., Wallukat G., Herse F., Budner O. et al.: CD19+CD5+ cells as indicators of preeclampsia. *Hypertension* 59 861-868 (2012)
103. Zhou C.C., Zhang Y., Irani R.A., Zhang H. et al.: Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nature medicine* 14 855-862 (2008)

104. Dragun D., Müller D.N., Bräsen J.H., Fritsche L. et al.: Angiotensin II Type 1– Receptor Activating Antibodies in Renal-Allograft Rejection. *N Engl J Med* 352 558-569 (2005)
105. Zhang S., Zheng R., Yang L., Zhang X. et al.: Angiotensin type 1 receptor autoantibody from preeclamptic patients induces human fetoplacental vasoconstriction. *Journal of cellular physiology* 228 142-148 (2013)
106. Gross C.M., Gerbault S., Quensel C., Krämer J. et al.: Angiotensin II type 1 receptor expression in human coronary arteries with variable degrees of atherosclerosis. *Basic Res Cardiol* 97 327-333 (2002)
107. Dragun D., Philippe A., Catar R., Hegner B.: Autoimmune mediated G-protein receptor activation in cardiovascular and renal pathologies. *Thromb Haemost* 101 643-648 (2009)
108. Haque S., Mirjafari H., Bruce I.N.: Atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Lipidol* 19 338-343 (2008)
109. Schoenfeld S.R., Kasturi S., Costenbader K.H.: The epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease among patients with SLE: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum* 43 77-95 (2013)
110. Salmon J.E., Roman M.J.: Subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 121 S3-8 (2008)
111. Roux-Lombard P., Pagano S., Montecucco F., Satta N., Vuilleumier N.: Auto-antibodies as emergent prognostic markers and possible mediators of ischemic cardiovascular diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 44 84-97 (2013)
112. Carbone F., Nencioni A., Mach F., Vuilleumier N., Montecucco F.: Evidence on the pathogenic role of auto-antibodies in acute cardiovascular diseases. *Thromb Haemost* 109 854-868 (2013)
113. Vuilleumier N., Reber G., James R., Burger D. et al.: Presence of autoantibodies to apolipoprotein A-1 in patients with acute coronary syndrome further links autoimmunity to cardiovascular disease. *J Autoimmun* 23 353-360 (2004)
114. Greco T.P., Conti-Kelly A.M., Greco T., JR, Doyle R. et al.: Newer antiphospholipid antibodies predict adverse outcomes in patients with acute coronary syndrome. *Am J Clin Pathol* 132 613-620 (2009)

115. Zhu J., Quyyumi A.A., Rott D., Csako G. et al.: Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation* 103 1071-1075 (2001)
116. Salonen J.T., Yla-Herttuala S., Yamamoto R., Butler S. et al.: Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 339 883-887 (1992)
117. Ruiz-Ortega M., Lorenzo O., Suzuki Y., Rupérez M., Egido J.: Proinflammatory actions of angiotensins. *Current opinion in nephrology and hypertension* 10 321-329 (2001)
118. Hernandez-Presa M., Bustos C., Ortego M., Tunon J. et al.: Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents arterial nuclear factor-kappa B activation, monocyte chemoattractant protein-1 expression, and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation* 95 1532-1541 (1997)
119. Phillips M.I., Kagiya S.: Angiotensin II as a pro-inflammatory mediator. *Curr Opin Investig Drugs* 3 569-577 (2002)
120. Yang B.C., Phillips M.I., Mohuczy D., Meng H. et al.: Increased Angiotensin II Type 1 Receptor Expression in Hypercholesterolemic Atherosclerosis in Rabbits. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 18 1433-1439 (1998)
121. Nickenig G., Sachinidis A., Michaelsen F., Bohm M. et al.: Upregulation of vascular angiotensin II receptor gene expression by low-density lipoprotein in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 95 473-478 (1997)
122. Hiemann N.E., Meyer R., Wellnhofer E., Schoenemann C. et al.: Non-HLA antibodies targeting vascular receptors enhance alloimmune response and microvasculopathy after heart transplantation. *Transplantation* 94 919-924 (2012)
123. Banasik M., Boratyńska M., Kościelska-Kasprzak K., Krajewska M. et al.: The impact of non-HLA antibodies directed against endothelin-1 type A receptors (ETAR) on early renal transplant outcomes. *Transplant immunology* 30 24-29 (2014)
124. Thorin E., Clozel M.: The Cardiovascular Physiology and Pharmacology of Endothelin-1. In: *Cardiovascular Pharmacology - Endothelial Control*. Elsevier 20101-26

125. Lerman A., Edwards B.S., Hallett J.W., Heublein D.M. et al.: Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. *N Engl J Med* 325 997-1001 (1991)
126. Barton M., Haudenschild C.C., d'Uscio L.V., Shaw S. et al.: Endothelin ETA receptor blockade restores NO-mediated endothelial function and inhibits atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 14367-14372 (1998)
127. Go A.S., Mozaffarian D., Roger V.L., Benjamin E.J. et al.: Executive summary: heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 129 399-410 (2014)
128. Rubtsov A.V., Rubtsova K., Kappler J.W., Marrack P.: Genetic and hormonal factors in female-biased autoimmunity. *Autoimmun Rev* 9 494-498 (2010)
129. Feldman C.H., Hiraki L.T., Liu J., Fischer M.A. et al.: Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000-2004. *Arthritis Rheum* 65 753-763 (2013)
130. Selmi C., Brunetta E., Raimondo M.G., Meroni P.L.: The X chromosome and the sex ratio of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 11 A531-7 (2012)
131. Lee J., Shin E.-K., Lee S.-Y., Her Y.-M. et al.: Estrogen upregulates IL-21 production by CD4⁺ T lymphocytes in patients with systemic lupus erythematosus. *Immunology* (2014)
132. Bilsel A.S., Moini H., Tetik E., Aksungar F. et al.: 17Beta-estradiol modulates endothelin-1 expression and release in human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 46 579-584 (2000)
133. Profumo E., Di Franco M., Buttari B., Masella R. et al.: Biomarkers of subclinical atherosclerosis in patients with autoimmune disorders. *Mediators of inflammation* 2012 503942 (2012)
134. Diehm C., Schuster A., Allenberg J.R., Darius H. et al.: High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis* 172 95-105 (2004)
135. Luft F.C., Dechend R., Dragun D., Müller D.N., Wallukat G.: Agonistic antibodies directed at cell surface receptors and cardiovascular disease. *Journal of the American Society of Hypertension : JASH* 2 8-14 (2008)

Abbildungs-, Graph- und Grafikenverzeichnis

Abbildung 1: Entstehung der Atherosklerose und Thrombusformation.....	13
Abbildung 2: Schematische Abbildung der Domänen eines IgG-Antikörpers.....	18
Abbildung 3: Schematische Darstellung der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren.....	20
Abbildung 4: Bildung von Ang II und seine Wirkung am AT1R.....	22
Abbildung 5: Biosynthese von ET-1 und seine Wirkung am ETAR und ETBR.....	25
Graph 1: Korrelation der Autoantikörpertiter für AT1R und ETAR in der Gesamtkohorte (n=200).....	38
Graph 2: Korrelation von Autoantikörpern gegen AT1R und ETAR mit Patienten, die gleichzeitig positiv für beide Autoantikörper waren (AT1R und ETAR > 2,5, n=99)....	39
Grafik 1: Boxplot zur geschlechtsspezifischen Verteilung der Endothelin- und Angiotensinrezeptor-Autoantikörper.....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadien der (p)AVK nach René Fontaine.....	10
Tabelle 2: Epidemiologische Patientencharakteristika (n=200).....	34
Tabelle 3: Erhebung der AT1R- und ETAR- Rezeptor-Autoantikörpertiter.....	35
Tabelle 4a: Median und 25.-75. Perzentile für AT1R-Autoantikörpertiter in der Negativ-, Einfach- und Hochpositivgruppe.....	37
Tabelle 4b: Median und 25.-75. Perzentile für ETAR-Autoantikörpertiter in der Negativ-, Einfach- und Hochpositivgruppe.....	37
Tabelle 5: Korrelation der AT1R- und ETAR-Autoantikörper in der Gesamtkohorte und in der Gruppe AT1R und ETAR > 2,5 Einheiten (n=200).....	38
Tabelle 6a: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Einfachpositivgruppe).....	40
Tabelle 6b: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Hochpositivgruppe).....	41
Tabelle 6c: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Einfachpositivgruppe).....	42
Tabelle 6d: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit ausgesuchten Laborparametern (Hochpositivgruppe).....	43
Tabelle 7a: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe).....	44
Tabelle 7b: Korrelation der AT1R-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe).....	44
Tabelle 7c: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe).....	44
Tabelle 7d: Korrelation der ETAR-Autoantikörper mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe).....	45
Tabelle 8a: Gruppierte Korrelation (AT1R und ETAR >2,5) mit ausgesuchten Laborwerten (Einfachpositivgruppe).....	46
Tabelle 8b: Gruppierte Korrelation (AT1R und ETAR >2,5) mit ausgesuchten Laborwerten (Hochpositivgruppe).....	47
Tabelle 9a: Gruppierte Korrelation mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Einfachpositivgruppe).....	48
Tabelle 9b: Gruppierte Korrelation mit Risikofaktoren und kardiovaskulären Ereignissen (Hochpositivgruppe).....	49

Tabelle 10: Epidemiologische Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten.....	50
Tabelle 11: Geschlechtsunterschiede Laborwerte.....	51
Tabelle 12a: Geschlechtsunterschiede im Median und 25.-75. Perzentile für AT1R-Autoantikörpertiter (Einfachpositivgruppe).....	52
Tabelle 12b: Geschlechtsunterschiede im Median und 25.-75. Perzentile für ETAR-Autoantikörpertiter (Einfachpositivgruppe).....	52
Tabelle 13a: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Einfachpositivgruppe für AT1R.....	53
Tabelle 13b: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Hochpositivgruppe für AT1R.....	53
Tabelle 13c: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Einfachpositivgruppe für ETAR.....	53
Tabelle 13d: Geschlechtsunterschiede gruppierte Analyse (AT1R und ETAR > 2,5) in der Hochpositivgruppe für ETAR.....	54

Danksagungen

Zunächst danke ich Professor Dr. Peter Mertens für die Möglichkeit an der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Diabetologie und Endokrinologie der Universität Magdeburg zu promovieren. Herzlichen Dank für die Überlassung des Promotionsthemas und die wertvolle Unterstützung bei der Ausführung.

Besonders möchte ich mich bei meinem Betreuer Dr. Christian Albert bedanken, der mich während der ganzen Arbeit an der Dissertation mit Geduld und Hilfsbereitschaft begleitet hat und jederzeit für Fragen zur Verfügung stand.

Des Weiteren danke ich Privatdozent Dr. Zahir Halloul und der Station Chirurgie 2 der Universitätsklinik Magdeburg für den Zugang zu den Patientendaten und die Hilfe im Alltag.

Danken möchte ich außerdem Frau Professor Dr. Duska Dragun und Herrn Dr. Harald Heidecke sowie dem Labor Luckenwalde Berlin für die Analyse der Autoantikörpertiter.

Außerdem gilt mein Dank Privatdozent Dr. Michael Haase und Frau Jenny Ullrich für die Hilfe bei den statistischen Analysen.

Ein persönlicher Dank gilt meinen Eltern, die mir diesen langen Ausbildungsweg ermöglicht haben und mich auf all meinen Wegen begleitet haben. Ihnen, meinen Geschwistern, besonders aber auch meinen Schwiegereltern und meinem Mann danke ich für die Geduld, das Verständnis und die vielseitige Unterstützung, ohne die es mir nicht möglich gewesen wäre, diese Arbeit fertigzustellen.

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Kohortenstudie zur Prävalenz von Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A-Rezeptor-Autoantikörpern bei (peripherer) arterieller Verschlusskrankheit

in der Universitätsklinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Diabetologie und Endokrinologie

mit der Unterstützung durch Professor Dr. med. Peter Mertens und Dr. med. Christian Albert ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Hamburg, den 30.04.2015

Marie v. Schultendorff

Lebenslauf

Personalien

Name	Marie von Schultendorff (geb. v. Plate-Stralenheim)
Geburtsdatum	27.04.1986
Geburtsort	Stade
Familienstand	verheiratet

Akademische Ausbildung

10/2009-09/2013	Otto-von-Guericke Universität Magdeburg Studium der Humanmedizin, Klinik
10/2007-09/2009	Georg-August-Universität zu Göttingen Studium der Humanmedizin, Vorklinik
08/2003-05/2005	Internat Stiftung Louisenlund, Güby
08/2002-06/2003	Internat Rydal Penrhos, Colwyn Bay, Wales
08/1998-05/2002	Gymnasium Corvinianum, Northeim

Praktisches Jahr

08/2012-12/2012	Bệnh Viện Quân Y 103, Hanoi, Vietnam Chirurgie
12/2012-03/2013	Hôpital Saint-Louis Université Paris Diderot, Paris, Frankreich Urologie
03/2013-06/2013	Universitätsklinik Magdeburg Innere Medizin (Nephrologie)

Famulaturen

02/2012	St. Vinzenz Hospital, Köln Gynäkologie und Geburtshilfe
09/2011	Centre hospitalier universitaire vaudois (CHUV), Lausanne, Schweiz Innere Medizin

03/2011 **Universitätsklinik Magdeburg**
Innere Medizin (Nephrologie) / Gefäßchirurgie

09/2010 **Hämatologisch – Onkologische Schwerpunktpraxis,
Göttingen**
Dres. Meyer/Ammon
Innere Medizin (Onkologie)

Promotion

01/2011 - heute **Universitätsklinik für Nieren- und
Hochdruckkrankheiten, Diabetologie und Endokrinologie**
Promotion im Fachbereich Innere Medizin
Thema der Dissertation: Kohortenstudie zur Prävalenz von
Angiotensin II Typ 1- und Endothelin-1 Typ A – Rezeptor-
Autoantikörper bei (peripherer) arterieller
Verschlusskrankheit
Betreuung durch Prof. Dr. med. P. R. Mertens

Besondere Kenntnisse, Interessen

Sprachen Deutsch (Muttersprache), Englisch (fließend), Französisch
(gut), Spanisch (gut), Vietnamesisch (Basiswissen)

EDV Microsoft Word, Excel, PowerPoint, SPSS

Interessen Reisen, Kunst, Theater, Reiten

Anhang

UNIVERSITÄTSKLINIKUM MAGDEBURG A.Ö.R.

Zentrum Innere Medizin
Universitätsklinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten
& Bereich Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Peter R. Mertens

Antrag auf Beratung für ein Forschungsvorhaben bei der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität

A. Formales

1.7.2010

1. Bezeichnung des Vorhabens

*„Untersuchung zur Pathogenese der (peripheren) arteriellen Verschlusskrankheit
(p)AVK mit segmentalem Befallsmuster“*

2. Verantwortliche(r) Antragsteller/Klinik:

Dr. med. Christian Albert

Wissenschaftlicher Assistent der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

Tel. 0391-6713236

Mobil : 0171-1966468

Email: christian.albert@med.ovgu.de

Dr. med. Peter Bartsch

Oberarzt der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

Tel. 0391-67 13241

Mobil :

Email : peter.bartsch@med.ovgu.de

Prof. Dr. med. Peter R. Mertens

Direktor der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

Tel. 0391-6713236

Email: peter.mertens@med.ovgu.de

Wenn Studie nach AMG oder MPG:

Verfügt der Antragsteller über eine mindestens zweijährige Erfahrung bei der klinischen Prüfung von Arzneimitteln bzw. Medizinprodukten?

entfällt

3. Art und Zahl der Prüfstellen/beteiligte Ärzte

Prof. Dr. med. P. R. Mertens
Direktor der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg

Priv.-Doz. Dr. med. Maciej Pech
Oberarzt der Universitätsklinik für Radiologie und Nuklearmedizin,
Leipziger Str. 44 39120 Magdeburg

Dr. med. Zuhir Halloul
Oberarzt der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie
Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg

Priv.-Doz. Dr. med. Oliver Dudeck
OPberarzt, Zentrum für Radiologie: Universitätsklinik für Radiologie und
Nuklearmedizin

Dr. med. J. Steinbach
Oberarzt der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg

Dr. med. C. Albert
Assistenzarzt der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg

Dr. med. P. Bartsch
Oberarzt der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Leipziger Str. 44, 39120 Magdeburg

4. Finanzierung:

mit Mitteln von Förderern	x ohne Mittel von Förderern
DFG/BMBF-Projekt	sonstige

5. Wurde schon ein Antrag in gleicher Sache bei einer anderen Ethik- Kommission gestellt?

ja x nein

Kann ein entsprechendes Votum vorgelegt werden?

ja x nein mehrere

B. Untersuchungsbeschreibung:

Kurze wissenschaftliche Beschreibung des Vorhabens

Arterielle Verschlusskrankheiten tragen erheblich zur Morbidität und Mortalität bei. Als Manifestationen sind Verschlusskrankheiten klinisch assoziiert mit Angina pectoris, Nierendurchblutungsstörungen, Claudicatio intermittens, Apoplexia cerebri und Ulcera

cruris. Beachtlich ist die klinische Heterogenität des Erscheinungsbildes, was durch unterschiedliche Pathomechanismen hervorgerufen werden könnte. Hierbei unterscheidet man klassische und nicht-klassische Risikofaktoren. Zu den klassischen Risikofaktoren zählen Hypercholesterinämie, Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchen, Hyperurikämie, positive Familienanamnese (Epidemiologische Untersuchungen weisen auf ein um Faktor 2-3 gesteigertes Risiko bei bekannter AVK im Verwandtenkreis ersten Grades).

Zu den nicht-klassischen Risikofaktoren zählen erhöhte Aldosteron-Spiegel (Conn Syndrom), Urämie, chronische Infektionen, Autoimmunreaktionen sowie (chronische) Entzündungsreaktionen.

Sämtliche genannte Faktoren können interagieren, jedoch auch isoliert einwirken. Zusammengenommen erklären sie jedoch nicht Unterschiede im „Befallsmuster“ der Atherosklerose in den Patienten, da die genannten Faktoren systemisch einwirken und nach unseren allgemeinen Vorstellungen keine lokoregionalen Veränderungen bedingen. Die atherosklerotischen Veränderungen können sämtliche Regionen des Gefäßsystems betreffen, oder jedoch „segmental“ vorliegen, d.h. nur bestimmte Gefäßabschnitte sind betroffen. Desweiteren fallen symmetrische Befallsmuster auf, die auf Schädigungen in bestimmten Gefäßabschnitten hinweisen. Diese können eindeutig von asymmetrischen einseitigen Veränderungen unterschieden werden. Diese Muster werden zur Klassifikation der pAVK herangezogen [1,2].

In der vorliegenden Studie soll untersucht werden, ob die genannten „Befallsmuster“ auf unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen zurückzuführen sind. Hierbei wird die Hypothese aufgestellt, dass autoimmunologische Prozesse mit langzeitigen „subklinischen“ Entzündungsreaktionen in den Gefäßwänden für symmetrische segmentale Gefäßveränderungen verantwortlich sind. Derartige Autoantikörpervermittelte Schädigungen sind u.a. für den Morbus Basedow, die Myasthenia gravis und systemische Sklerose verantwortlich.[14-16], ein direkter Bezug zur Atherogenese-Entstehung ist jedoch nicht bekannt.

Unterstützt wird das Konzept einer subklinisch ablaufenden autoimmunologischen Arteriitis durch folgende Erkenntnisse:

1. Auffällig zeigen sich symmetrische Befallsmuster in Iliakalarterien oder ein segmental-aortaler Befall ohne Beteiligung der peripheren mittel- und kleinkalibrigen Arterien. Im Gegensatz hierzu wird bei einigen Patienten ein peripheres, eher disseminiertes, asymmetrisches Befallsmuster beobachtet.
2. In der Gefäßwandung befindliche Antigene können sich je nach Lokalisation der Gefäße unterscheiden. Handelt es sich um „Oberflächenmarker“, die zum Beispiel auf Endothelzellen exprimiert werden, können Autoimmunreaktionen auftreten mit einer Selektivität für bestimmte Gefäßabschnitte [7,8].
3. Eine Variabilität von Oberflächenantigenen konnte bei verschiedenen vaskulären Entwicklungsstufen in der Neoangiogenese aufgezeigt werden.[6]
4. Eine inflammatorische und auto-immunologische Genese könnte durch Kreuzreaktion mit bakteriellen Antigenen getriggert werden [3,5].
5. Bei nekrotisierenden Vaskulitiden ist eine Beteiligung von bestimmten Gefäßstrukturen oftmals zu beobachten. Zum Beispiel sind bei der granulomatösen Vaskulitis vom Typ des Morbus Wegener oder der mikroskopischen Polyangiitis die mittleren und kleinen Gefäße betroffen. Unterschiede im Befallsmuster der Gefäße hat entsprechend Eingang in die Klassifikation genommen [4]. Zudem wurde ein beschleunigter Verlauf der pAVK bei Vaskulitiden beschrieben, z.B. bei M. Wegener [9]. Diese Erkrankung ist gehäuft mit kardialen Ereignissen assoziiert [10].

6. Weiterhin ist bekannt, dass sich in Nierentransplantatgefäßen eine zumeist zirkuläre und beschleunigte, immunologisch vermittelte Atherosklerose entwickelt. [12,13]. Im Gegensatz zur „klassischen“ (p)AVK beobachtet man bei einer derart „immunologisch vermittelten“ Pathogenese eine zirkumferente Gefäßwandbeteiligung.

In dieser Studie sollen pathogenetische Zusammenhänge zwischen entzündlichen Komponenten und der Atherogenese aufgezeigt werden. Bei klinisch relevanter (p)AVK soll das Gefäßbefallsmuster bildmorphologisch erfasst und in Serumproben nach Hinweisen auf eine autoimmune Genese gefahndet werden [5].

Die Aufarbeitung der Serumproben setzt Kenntnisse über die Morphologie, das Verteilungsmuster sowie die klassischen und nicht-klassischen Risikofaktoren voraus.

Folgende Patienten-Gruppen sollen unterschieden werden:

1. **diffuse Gefäßveränderungen** (große, mittlere, kleine Gefäße), Vorliegen von klassischen Risikofaktoren
2. **asymmetrische, segmentale Gefäßveränderungen in den Iliakal-/Beingefäßen**, Vorliegen von klassischen Risikofaktoren
3. **symmetrische, segmentale Gefäßveränderungen in den Iliakal-/Beingefäßen**, Fehlen von klassischen Risikofaktoren
4. **segmentale Gefäßveränderungen in der Aorta**,
5. **isolierte KHK oder Apoplexia cerebri** bei Fehlen von Gefäßveränderungen der anderen großkalibrigen Arterien (keine pAVK)

Die Patienten werden entsprechend angiographischer Befunde, die im Rahmen der Abklärung von Beschwerden erhoben werden, sowie klinischer Daten klassifiziert. Geplant ist die Aufnahme von 300 Patienten in die Studie.

Von den Patienten sollen Serum- und Vollblut-Proben (letztere zur DNA-Gewinnung) asserviert werden. Mittels Anamnese-Erhebung (siehe Anhang) werden relevante Informationen zu Gefäßveränderungen sowie die Familienanamnese erfasst.

Die Serumproben werden aufgearbeitet und bei -80°C gelagert. In Western Blot-Technik werden Untersuchungen zum Vorliegen von Autoantikörpern gegen zelluläre Bestandteile von

- glatten Gefäßmuskelzellen
- Endothelzellen
- Gewebeextrakten von Gefäßabschnitten

durchgeführt.

Glatte Gefäßmuskelzellen liegen als immortalisierte Zelllinien vor bzw. werden aus Gefäßexplantaten in Primärkultur gebracht (siehe unten), Endothelzellen als humane embryonale Nabelschnurzellen (HUVEC) [17].

Bei Patienten mit geplanter Thrombendarteriektomie oder Katheter-gestützter Rekanalisation, bei der Zellmaterial bzw. Gewebe gewonnen wird, soll ein Einverständnis zur wissenschaftlichen Nutzung des Gewebes eingeholt werden. Weitere Zustimmung wird von Patienten gesucht, denen operativ Gewebe mit Gefäßen entnommen wird (z.B.. Tumornephrektomie, Aortendissektion). Liegt dieses vor, werden die Proben pseudonymisiert und aufgearbeitet. Zelllysate werden hergestellt und zur Testung auf Autoantikörper eingesetzt.

Ein Nachweis von Auto-Antikörpern gegen die Antigene der o.g. Zell- und Gewebeproben wird durchgeführt. Serumproben von Patienten aus den 5 Gruppen werden untersucht und die Ergebnisse miteinander verglichen.

Als ersten Schritt werden die Gewebeextrakte mittels Western Blot elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend die Serumproben als verdünnte Primärantikörper mit den transferierten Proteinen inkubiert. Anti-humane Zweitantikörper dienen anschließend der Detektion von Auto-Antikörpern.

Studienziele (mit Ausweis des primären Zielkriteriums)

Ziel der Studie ist es, pathogenetisch relevante Autoantigene zu identifizieren, die zu einer Immunisierung führen und aufgrund der Einwirkung von Autoantikörpern eine Vaskulopathie induzieren.

Im ersten Schritt soll untersucht werden, ob das **Auftreten von Autoantikörpern** mit dem **Verteilungsmuster bzw. dem Auftreten von Atherosklerose** in den verschiedenen Patientengruppen korreliert.

In dem zweiten Schritt wird nach den **Autoantigenen** gefahndet, die für die o.g. Phänomene verantwortlich sind.

Gegebenenfalls wird in weiterführenden Studien aufgeklärt, wie es zu einer Autoantikörperbildung kommt, z.B. aufgrund einer **molekularen Mimikry** (vorstellbar wären z.B. Infektionen bakterieller Art wie *H. pylori*, *Ch. pneumoniae*) [5,6].

Literatur

- 1) Lawall H, Diehm C, Pittrow P. Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK). *Vasa* 2009;38 S/75:9-12
- 2) Lawall H, Diehm C, Pittrow P. Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK). *Vasa* 2009;38 S/75:37-42
- 3) Hansson GK. Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1876-90
- 4) Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K et al. Nomenclature of Systemic Vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994 Feb;37(2):187-92
- 5) Ross R. Atherosclerosis-An Inflammatory Disease. *NEJM* 1999 Jan;14: 115-126
- 6) Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 2006 Jul;6(7):508-19.
- 7) William G Couser and Masaomi Nangaku. Cellular and molecular biology of membranous nephropathy. *J Nephrol*; 2006, 19: 699-705
- 8) Pierre Ronco and Hanna Debiec. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. *JASN*; 2010,21 :564-569
- 9) de Leeuw et al. Accelerated atherosclerosis in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:753–759
- 10) Faurschou et al. Increased morbidity from ischemic heart disease in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum* 2009;60:1187-1192
- 11) Tero A H Järvinen and Erkki Ruoslahti, Molecular changes in the vasculature of injured tissues. *Am J Pathol*; 2007, 171:702-11
- 12) Hill et al. Accelerated arteriosclerosis: a form of transplant arteriopathy. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010 Feb;15(1):11-5.

- 13) Briese et al. Arterial stiffness in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2008 Dec;23(12):2241-5. Epub 2008 Jun 27.
- 14) Dragun D, Philippe A, Catar R, Hegner B. Autoimmune mediated G-protein receptor activation in cardiovascular and renal pathologies. *Thromb Haemost.* 2009 Apr;101(4):643-8
- 15) Dragun D, Distler JH, Riemekasten G, Distler O. Stimulatory autoantibodies to platelet-derived growth factor receptors in systemic sclerosis: what functional autoimmunity could learn from receptor biology. *Arthritis Rheum.* 2009 Apr;60(4):907-11
- 16) Dragun D, Müller DN, Bräsen JH et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med.* 2005 Feb 10;352(6):558-69
- 17) Golovina VA, Blaustein MP. Preparation of primary cultured mesenteric artery smooth muscle cells for fluorescent imaging and physiological studies. *Nat Protoc.* 2006;1(6):2681-7.

Hypothesen:

Folgende Hypothese liegt dem Projekt zugrunde:

Neben oben genannter Formen der pAVK gibt es eine Antigen-Antikörper vermittelte vaskulitisch verlaufende Form der Atherosklerose. Dieser inflammatorische Verlauf wird durch Autoantikörper aufrechterhalten und ist von eher subklinischer Natur und führt schleichend zu segmentalen, zirkulären Gefäßverkalkungen.

- Die Gefäßstrombahn unterscheidet sich segmental und ist unterschiedlich anfällig für Gefäßschäden [11].
- An der Pathogenese sind Autoantikörper bedeutsam, die gegen Bestandteile der Gefäßwand gerichtet sind.
- Autoantikörper können zu einem segmentalen Befall bei Atherosklerose beitragen.

3. Vorgesehene Dauer der Studie?

3 Jahre ab Genehmigung des Antrages

4. Probanden- oder/und Patientenauswahl/-zahl / Probenaufarbeitung:

Die eingereichte Studie soll an einem Kollektiv von ca. 200 Patienten durchgeführt werden. In der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten sowie dem Bereich Endokrinologie und der Abteilung für Gefäßchirurgie erhalten ca. 30-50 Patienten pro Monat eine DSA.

Es findet eine Zuordnung in folgende Patienten-Gruppen statt:

1. diffuse Gefäßveränderungen (große, mittlere, kleine Gefäße), Vorliegen von klassischen Risikofaktoren
2. asymmetrische, segmentale Gefäßveränderungen in den Iliakal-/Beingefäßen, Vorliegen von klassischen Risikofaktoren

3. symmetrische, segmentale Gefäßveränderungen in den Iliakal-/Beingefäßen, Fehlen von klassischen Risikofaktoren
4. segmentale Gefäßveränderungen in der Aorta
5. isolierte KHK oder Apoplexia cerebri bei Fehlen von Gefäßveränderungen der anderen großkalibrigen Arterien (keine pAVK)

Die Patienten werden je nach Befallsmuster, welches durch elektive und im Rahmen der Routineversorgung durchgeführten Bildgebung (DSA, Angio CT/MR) ausgewertet wird, der Studien oder Kontrollgruppe zugeführt. Für eine weitere Kontrollgruppe wird Serum von Patienten ohne (p)AVK bzw. bekannte Autoimmunerkrankung gewonnen.

Im Rahmen von Routineabnahmen durch periphere Venenpunktion werden 10ml (EDTA) Vollblut (für DNA-Extraktion) und 20ml Serum (zur Bestimmung der Autoantikörper) abgenommen. Im Rahmen der Routine-Untersuchung werden folgende Parameter erfasst:

- Harnsäure, Aldosteron-Spiegel
- Kreatinin, Harnstoff, Blutgasanalyse
- Blutfette (Triglyzeride, Cholesterin, Lipoprotein(a))
- Vitamin D Status: 25(OH)D3
- HbA1c
- CRP, Differentialblutbild
- TPZ, INR, PTT

Genotypisierung mittels genomischer DNA

Für eine Reihe von Gefäßerkrankungen sind Mutationen ursächlich bedeutsam. Zum Beispiel kommt es bei der Mutation des Notch-3 Rezeptors zu einer frühzeitigen dementiellen Veränderung bei Betroffenen mit Verminderung der Hirndurchblutung und Mediaverbreiterung. Die Detektion evtl. vorliegender Polymorphismen erfolgt mittels bereits etablierter Sequenzanalysen und parallel durch Einsatz von TaqMan™ basierter Genotypisierungsassays (Applied Biosystems). Mit Hilfe dieser Methodik ist gleichzeitig eine Allel-Typisierung der Patienten möglich.

Einschlußkriterien

- elektive Kontrastmitteluntersuchung (DSA), Angio CT/MR
- (p)AVK
- Alter > 18 Jahre
- Zustimmungsfähigkeit

Ausschlußkriterien

- Schwangerschaft, Stillzeit, KM-Unverträglichkeit, Hyperthyreose
- Fehlende schriftliche Zustimmung zur Teilnahme an der Studie nach vorausgegangener ausführlicher Information über den Inhalt der Studie durch den Patienten.

5. Art der Studie:

- Arzneimittelprüfung? - Phase: _____
diagnostische Prüfung?
therapeutische Studie?
Verträglichkeitsprüfung?
Bioverfügbarkeit?
epidemiologische Studie?
Erprobung eines Medizinproduktes/-gerätes?
x Forschung am menschlichen Gewebe?
Humanexperiment

6. Welche Bestimmungen finden Anwendung?

- Arzneimittelgesetz (AMG) vor der 12.Novelle (01.08.04)
(Anzeigepflicht beim RP beachten!)
- | | | |
|------------------------------|----|------|
| Medizinproduktegesetz (MPG) | ja | nein |
| CE-Kennzeichnung liegt vor | ja | nein |
| Medizingeräteverordnung | ja | nein |
| Zulassung liegt vor | ja | nein |
| Strahlenschutzverordnung | ja | nein |
| Genehmigung des RP liegt vor | ja | nein |
| Röntgenverordnung | ja | nein |
| Genehmigung des RP liegt vor | ja | nein |
- Beachtung der Grundsätze für die
ordnungsgemäße Durchführung der klinischen
Prüfung von Arzneimitteln von 1987
GCP Empfehlungen (Good Clinical Practice) der EU
Datenschutzgesetz
revidierte Deklaration von Helsinki in der Fassung
vom Oktober 2000 in Edinburgh

7. Sind Vorprüfungen durchgeführt worden?

ja x nein

Wenn ja, welche?

entfällt

8. Pharmakologisch-toxikologische Prüfung durchgeführt?

entfällt

Für diese Indikation zugelassen?

14. Weitergabe von Ergebnissen an Dritte

- anonymisiert bzw. pseudonymisiert
- unter Beachtung der ärztlichen Schweigepflicht
- des Datenschutzes
- mit Zustimmung des Probanden/Patienten
(Aufklärungs- und Einwilligungserklärung beachten)

Pseudonymisierung:

Um eine Datensicherheit für die Patienten zu erreichen, werden die Proben mit einer fortlaufenden Nummerierung sowie dem Datum der Probensammlung versehen, jedoch nicht mit einer Abkürzung von Patienten-bezogenen Informationen (Initialien/ Geb.Datum). Eine eindeutige Zuordnung der Proben zu den klinischen Daten wird über diese Kodierung gegeben sein.

Eine eindeutige Zuordnung zu den Patienten-Informationen (Name, Geburtsdatum, Telefonnummer, Anschrift) wird ausschließlich in dem hiesigen Zentrum durch die Führung einer räumlich getrennten zweiten Liste möglich sein, die zusammen mit der Einverständniserklärung geführt wird.

15. Schriftliche Fassung der Information für

Patienten/Probanden über das Forschungsvorhaben und ihre Beteiligung sowie Text der Einwilligungserklärung

- liegt vor
wegen folgender besonderer Bedingungen nicht möglich

16. Versicherungsschutz/Probandenversicherung (nach AMG und MPG zwingend erforderlich)

nicht notwendig, weil Blutentnahmen im Rahmen der stationären Versorgung stattfinden

abgeschlossen bei:
(Versicherungsvertrag beifügen)

Probandenversicherung steht noch aus.
Finanzierung muss geklärt werden.

17. Kostenübernahmeerklärung (bei geförderten Studien gemäß Status)

EK-Beratungskosten überwiesen
veranlasst

- nicht erforderlich, weil:

Forschungsvorhaben der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität

18. Anlagen:

x Prüfplan

Versicherungsvertrag

x Patienten/Probandeninformation

x Einwilligungserklärung

Votum/Voten anderer Ethik-Kommission(en)

Unterschriften der Antragsteller:

Dr. med. Christian Albert

OA Dr. med. Peter Bartsch

19. Bestätigung des Klinik/Institutsdirektors, dass der Antragsteller über eine mindestens 2-jährige Erfahrung zur Durchführung klinischer Studien verfügt.

(Unterschrift des Klinik-/Institutsdirektors)

Einwilligungserklärung

zur Teilnahme an der Studie

**„Untersuchung zur Pathogenese der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit
(p)AVK mit segmentalem Befallsmuster“**

Ich bestätige hiermit, dass ich durch den behandelnden Arzt angemessen über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der beabsichtigten klinischen Studie aufgeklärt wurde und für meine Entscheidung genügend Bedenkzeit hatte.

Ich habe die Patienteninformation gelesen, ich fühle mich ausreichend informiert und habe verstanden, worum es geht. Mein Arzt hat mir ausreichend Gelegenheit gegeben, Fragen zu stellen, die alle für mich ausreichend beantwortet wurden.

Ich erkläre mich einverstanden, dass im Rahmen der Untersuchung ca. 35 ml Blut entnommen werden, welche zu Forschungszwecken verwendet werden. Alle erhobenen Daten werden entsprechend der ärztlichen Schweigepflicht und den gesetzlichen Bestimmungen vertraulich behandelt.

Meine Einwilligung, an diesem Forschungsvorhaben als Patient teilzunehmen, erfolgt ganz und gar freiwillig. Ich stimme durch die Teilnahme an der Studie zu, dass Blutproben bei mir gewonnen und zu Forschungszwecken untersucht werden.

Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir dadurch irgendwelche Nachteile für meine weitere ärztliche Behandlung und medizinische Versorgung entstehen. Durch die Studienteilnahme ergibt sich für meine therapeutischen Konsequenzen kein individueller Nutzen.

Ich habe eine Kopie der Patienteninformation und dieser unterschriebenen Einwilligungserklärung erhalten.

(bitte zutreffendes ankreuzen)

Ich bin damit einverstanden, dass meine Proben/Befunde für wissenschaftliche Zwecke untersucht werden. Ja Nein

Falls ich meine Teilnahme an der Studie widerrufe, sollen meine Proben vernichtet werden. Ja Nein

Ich bin damit einverstanden, dass meine Proben/Befunde für zukünftige Untersuchungen zur Entstehung der arteriellen Verschlusskrankheit aufbewahrt werden. Ja Nein

Ich bin damit einverstanden, dass meine Proben/Befunde anonym auch von anderen Forschern für Untersuchungen, die mit der Erforschung der arteriellen Verschlusskrankheit zu tun haben verwendet werden können. Ja Nein

Ich bin damit einverstanden, dass bei evtl. Operation anfallendes Restgewebe/Gewebeproben neben den Routineuntersuchungen für weitere wissenschaftliche Untersuchungen im Rahmen der o.g. Untersuchungen verwendet werden. Ja Nein

Ich bin damit einverstanden, dass meine Proben anonym auch für genetische Untersuchungen, die mit der Erforschung der arteriellen Verschlusskrankheit zu tun haben, verwendet werden können. Ja Nein

Bei wissenschaftlichen Studien werden persönliche Daten und medizinische Befunde über Sie erhoben. Eine Pseudonymisierung erfolgt zum frühestmöglichen Zeitpunkt. Eine Veröffentlichung in wissenschaftlichen Zeitschriften erfolgt anonymisiert. Die Daten werden zum frühestmöglichen Zeitpunkt nach Beendigung der wissenschaftlichen Untersuchungen gelöscht. Eine Weitergabe der personenbezogenen Daten wird ausschließlich an ärztliche Mitarbeiter innerhalb der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten erfolgen.

Die Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser studienbezogenen Daten erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor Teilnahme an der Studie folgende freiwillige Einwilligung voraus:

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten bzw. Krankheitsdaten auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung an Mitarbeiter der Universitätsklinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg sowie in pseudonymisierter Form an kooperierende Arbeitsgruppen zur Durchführung wissenschaftlicher Untersuchungen weitergegeben werden .

Name des Patienten: _____

Datum Patientenunterschrift

Behandelnder Arzt, der die Patientenaufklärung durchgeführt hat:

Name: _____

Datum Arztunterschrift