



1. Einleitung

1.1. Antiphospholipid - Antikörper

1.1.1. Historischer Hintergrund

Antiphospholipid-Antikörper (APL-AK) wurden erstmals im Jahre 1906 von Wassermann et al [1] in einer Studie bei serologisch positiven Syphilis-Patienten beschrieben. Die APL-AK wurden damals allerdings für die Diagnose der Syphilis eingesetzt und nicht für die Diagnose eines Antiphospholipid-Syndroms (APS), das damals noch nicht bekannt war. Durch die Veröffentlichung einer neuen Leitlinie („National Venereal Disease Control Act“ 1938) in den USA wurde ein erweitertes Syphilis-Screening bei unterschiedlichen Populationen durchgeführt. Der US Kongress erhoffte sich dadurch eine bessere Kontrolle und Verständnis über die Erkrankung Syphilis. Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten in einer Untergruppe der auf eine Syphilis gescreenten Personen falsch-positive Testergebnisse identifiziert werden, ohne dass klinische Hinweise für eine Syphilis vorlagen [2]. Daraufhin wurde entdeckt, dass eine Vielzahl dieser falsch-positiv getesteten Patienten thromboembolische Ereignisse erlitten [3]. Aus der Assoziation von falsch-positiven Testergebnissen und thromboembolischen Ereignissen wurde die Eigenschaft der Antikörper weiter erforscht. Im Verlauf beschrieben Conley und Hartmann 1952 [4] zwei Patienten mit systemischem Lupus erythematoses (SLE), die ungewöhnliche Ergebnisse in Gerinnungstesten vorwiesen. Es zeigte sich eine verlängerte aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und Prothrombinzeit (PT) sowie eine normale Thrombinzeit (TZ), was einen Heparineffekt ausschloss. Die Konversion von Prothrombin zu Thrombin musste durch ein bis dato unbekanntes „Antikoagulans“ beeinträchtigt werden [5]. Nach einer Glucocorticoidgabe bei einem Patienten verbesserten sich die Werte, was wiederum eine immunologische Komponente des „Antikoagulans“ vermuten ließ [4]. 1959 wurde durch Loelinger et al [6] die Hypothese aufgestellt, dass die bei SLE-Patienten gefundenen Inhibitoren bzw. Antikörper gegen einen Komplex aus Phospholipiden und Phospholipid-bindenden Proteinen gerichtet sein müssen. Es wurde postuliert, dass ein Cofaktor im Plasma für die maximale Aktivierung dieses „Antikoa-



Einleitung

„Lupusantikoagulans“ nötig ist [6]. Dreizehn Jahre später führten Feinstein et al [7] den Begriff „Lupusantikoagulans“ für dieses erworbene Inhibitorphänomen ein. Mittlerweile ist bekannt, dass es sich bei dem „Antikoagulans“ um Antiphospholipid-Antikörper handelt, die gerinnungswirksame Phospholipide blockieren, indem sie deren regulierende Plasmaproteine binden und beeinflussen.

Zu den gerinnungswirksamen Phospholipiden zählen Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin, Phosphatidylethanolamin und Cardiolipin. Phospholipide enthalten Glycerin und zwei Fettsäure-Moleküle als Grundgerüst; dieses ist über einen Phosphorsäure-Rest mit einem weiteren organischen Molekül verestert, das dem Phospholipid seine charakteristischen Eigenschaften vermittelt [8]. Phospholipide bestimmen wesentlich den Ablauf zellulärer Prozesse. Die für das APS relevanten APL-AK binden zum großen Teil direkt an Plasmaproteine, die ihrerseits Komplexe mit negativ geladenen gerinnungsaktiven Phospholipiden auf der Oberfläche von Zellmembranen aktivierter Monozyten, Endothelzellen oder Thrombozyten bilden [9]. Durch die Interaktion von APL-AK und Plasmaproteinen, die an die Zellmembran oder die Thrombozytenrezeptoren binden, wird eine Hyperkoagulabilität bedingt. APS-Patienten können APL-AK vom Isotyp IgG, IgM oder sogar IgA aufweisen. Allerdings zeigt sich bei Vorliegen von APL-AK vom IgG-Typ die engste Assoziation mit klinischen Ereignissen [10]. Zu den Plasmaproteinen, die APL-AK binden können, gehören beta-2-Glykoprotein-I (b2GPI), Prothrombin, Protein C und S, Annexin-5, Thrombomodulin und High und Low Molecular Weight Kininogen [11]. Die am häufigsten nachgewiesenen Subgruppen von APL-AK sind Lupusantikoagulans, Anticardiolipin-Antikörper und gegen b2GPI gerichtete Antikörper [9]. In den folgenden Abschnitten werden die Entitäten der drei häufigsten Antikörper-Subgruppen erläutert.

1.1.2. Anticardiolipin-Antikörper

Die Anticardiolipine waren die ersten Antikörper, die – wie bereits ausgeführt – im Rahmen der Syphilis-Diagnostik 1906 entdeckt worden waren. Bei der serodiagnostischen Reaktion der Syphilis handelte es sich um komplementbindende Antikörper aus Schweineherz-Extrakt. Das gebundene Komplement wurde spä-

Einleitung

ter als Cardiolipin, ein mitochondriales Phospholipid, identifiziert [1, 12]. 1983 wurde ein Festphase-Immunoassay für die Detektion von Anticardiolipin-Antikörper (ACL-AK) entwickelt, welcher sich als deutlich sensitiver für die Erkennung von ACL-AK zeigte als der in der Syphilis-Diagnostik verwendete Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) Test. Die quantitative Messung der ACL-AK vom IgG- und IgM-Typ erfolgt heutzutage in der Regel mit einem antikörperbasiertes Nachweisverfahren, z.B. einem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

1.1.3. Anti-beta-2-Glykoprotein-I

Erst 1990 konnte nachgewiesen werden, dass APL-AK zumeist gegen b2GPI- und Prothrombin-bindende Phospholipidkomplexe gerichtet sind [13, 14]. b2GPI ist ein großes 43-kDA Protein, das in einer Konzentration von ca. 200 µg/mL im Plasma zirkuliert [15]. Das Molekül besteht aus 326 Aminosäuren, die in 5 Domänen angeordnet sind [16, 17]. Es handelt sich um einen physiologischen lipidbindenden Inhibitor der Gerinnung (Synonym: Apolipoprotein H). Die Synthese erfolgt überwiegend in Hepatozyten, aber auch in Endothelzellen und in der Plazenta [18]. b2GPI stellt einen wichtigen Kofaktor für die Bindung von APL-AK an Phospholipide dar. In Gegenwart physiologischer Phospholipidoberflächen führen einige anti-b2GPI-AK zu einer Quervernetzung von zwei b2GPI-Molekülen, die dann eine hohe Affinität zu Phospholipidoberflächen besitzen und an diese binden (Abbildung 1). Das Besetzen der Phospholipidoberfläche durch diese bivalenten Immunkomplexe auf der Oberfläche von Thrombozyten, Endothelzellen und Monozyten beeinflusst die Gerinnungsabläufe [18]. Der Nachweis von anti-b2GPI erfolgt über ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, z.B. ELISA-Verfahren. Mit dieser Methode können unterschiedliche Isotypen (IgG, IgM, IgA) nachgewiesen werden.

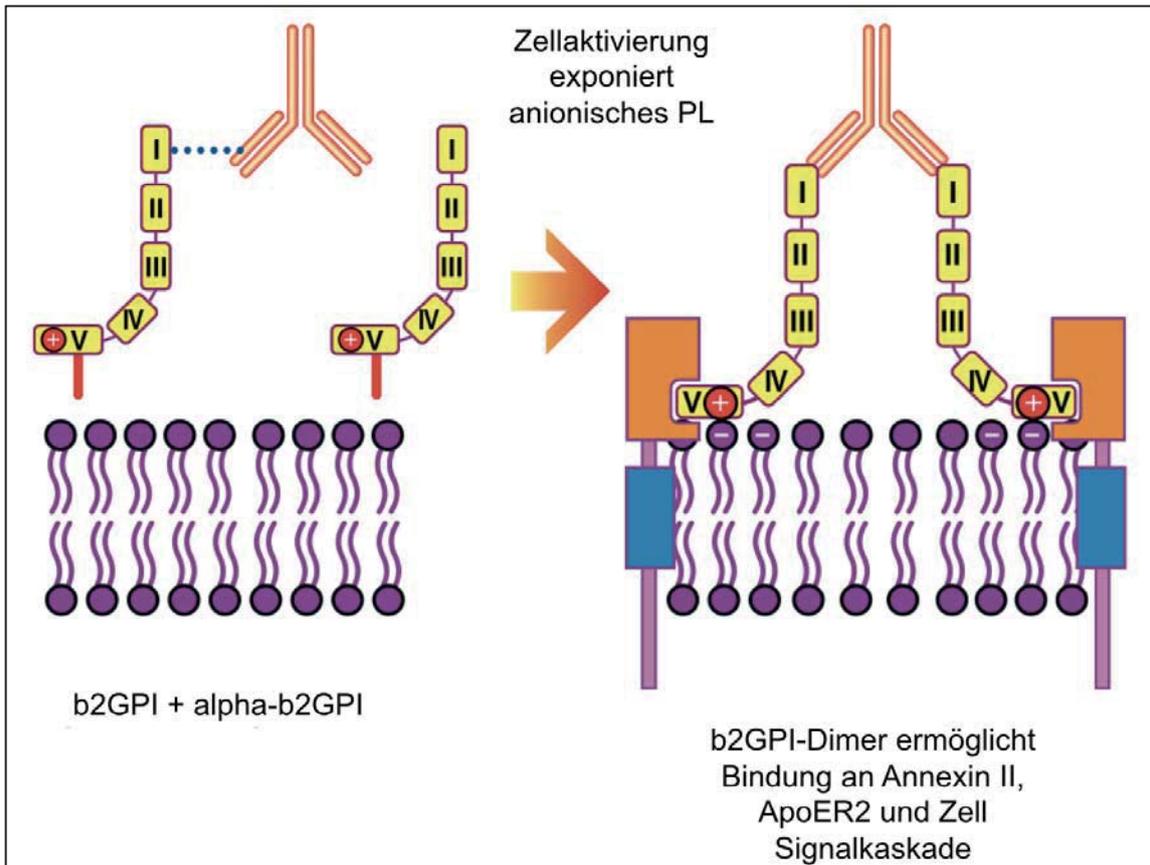


Abbildung 1: anti-b2GPI bildet einen Komplex mit 2 b2GPI-Molekülen; dadurch wird eine Interaktion mit Zelloberflächen-Rezeptoren auf Thrombozyten (z.B. ApoER2) und Endothelzellen (z.B. Annexin II) ausgelöst und die Zelle aktiviert [19].

1.1.4. Lupusantikoagulans

Lupusantikoagulanzen (LA) bezeichnet eine heterogene Gruppe von Antikörpern, die gegen Phospholipid-bindende Proteine (hauptsächlich b2GPI und Prothrombin) gerichtet sind. LA sind im Vergleich zu den ACL- und b2GPI-AK nicht gegen ein spezifisches Antigen gerichtet, sondern gegen eine Vielzahl von Phospholipid-bindenden Proteinen. Der Effekt der LA ist dem der spezifischen APL-AK ähnlich. Auf Grund der Inhibition von Phospholipid-bindenden Proteinen, die für die Thrombusbildung grundlegend sind, kommt es zu einer Hyperkoagulabilität. LA werden mit Phospholipid-abhängigen Gerinnungstesten nachgewiesen. Im Testansatz binden die Antikörper eines Patienten an die vorhandenen Phospholipide, was mit einer Verlängerung der Gerinnungszeiten einhergeht. Trotz in vivo vorliegender Hyperkoagulabilität lässt sich bei Patienten

Einleitung

ten somit *in vitro* beispielsweise eine aPTT-Verlängerung nachweisen [20]. Die aPTT gilt als Globaltest der endogenen Gerinnung und ist in erster Linie abhängig von den Faktoren VIII, IX, XI, XII und den Faktoren der gemeinsamen Endstrecke der Gerinnungskaskade [21]. Abbildung 2 zeigt den schematischen Ablauf einer aPTT-Bestimmung.

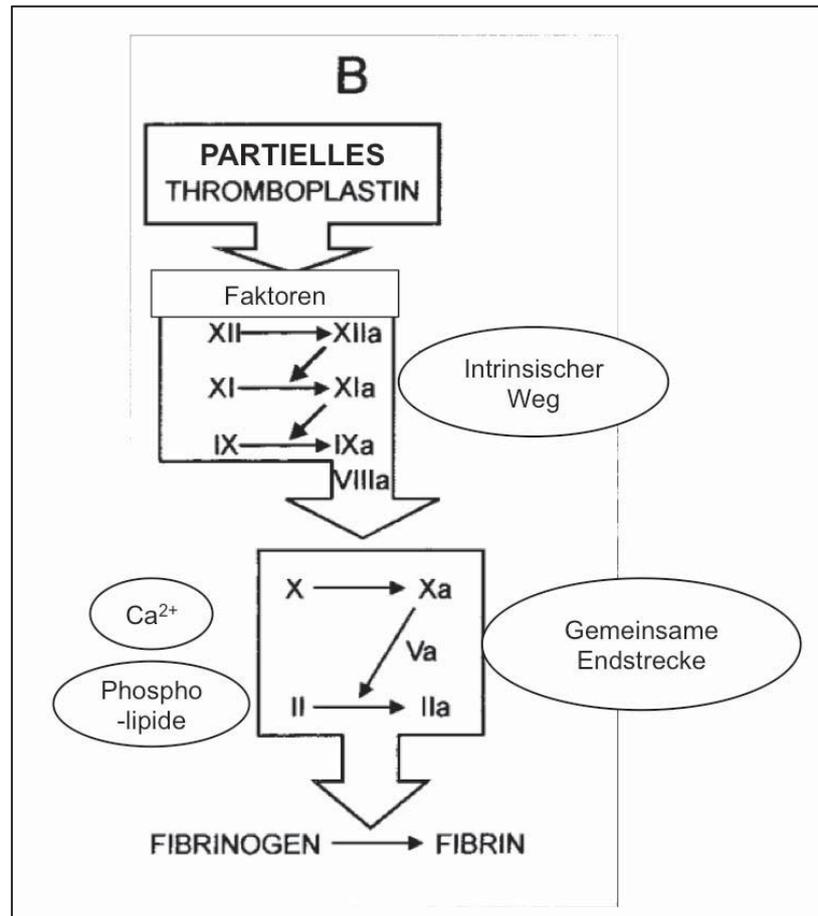


Abbildung 2: aPTT. Partielles Thromboplastin-Reagenz, bestehend aus einer oberflächenaktiven Substanz und verdünnten synthetischen Phospholipiden, wird mit Citratplasma vermischt. Es folgt eine Inkubation mit Aktivierung der Gerinnungsfaktoren. Am Ende der Kaskade steht die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin [22].

Der Ablauf der gemeinsamen Endstrecke ist von der Aktivierung der Faktoren X, V und II abhängig und zusätzlich von der Anwesenheit von Calcium und Phospholipiden. Ohne Anwesenheit von Phospholipiden kann Fibrinogen nicht zu Fibrin aktiviert werden und eine Verlängerung der Gerinnungszeit resultiert. Da LA Phospholipide, durch Blockade Phospholipid-bindender Proteine abfan-