

**Aus der Kardiologischen Klinik  
des Herzzentrums Nordrhein-Westfalen in Bad Oeynhausen  
Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum  
Direktor : Universitätsprofessor Dr. med. D. Horstkotte**

**Durchflußzytometrische Analyse der  
Thrombozytenaktivierung mittels monoklonaler Antikörper  
bei Patienten mit Mitralklappenprolaps und mit  
Mitralklappenprolaps-Syndrom**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde des Fachbereiches Humanmedizin einer  
Hohen Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum**

vorgelegt von :

**Thomas Butz**

aus Hilden

**2000**

Dekan:       Universitätsprofessor Dr. med. G. Muhr, Bochum

Referent:     Universitätsprofessor Dr. med. D. Horstkotte, Bad Oeynhausen

Koreferent:  Professor Dr. med. J. Barmeyer, Bochum

Tag der mündlichen Prüfung: 14.11.2000

# *Inhaltsverzeichnis*

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Aufbau und Funktion der Mitralklappe .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Der Mitralklappenprolaps (MKP) .....</b>	<b>5</b>
1.2.1 Definition	
1.2.2 Ätiologie	
1.2.3 Epidemiologie	
1.2.4 Diagnose	
1.2.5 Komplikationen	
<b>1.3 Das Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS) .....</b>	<b>15</b>
1.3.1 Definition	
1.3.2 Ätiologie	
1.3.3 Epidemiologie	
1.3.4 Diagnose	
1.3.5 Komplikationen	
<b>1.4 Hämostase und Thrombozytenfunktion .....</b>	<b>33</b>
1.4.1 Physiologie von Hämostase und Thrombozytenfunktion	
1.4.2 Spezielle Aspekte der Thrombozytenfunktion	
1.4.3 Pathophysiologie der Thrombozytenaktivierung bei MKP und MKPS	
<b>1.5 Ziel der Studie .....</b>	<b>45</b>

<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>46</b>
<b>2.1 Material .....</b>	<b>46</b>
2.1.1 Name und Ziel des Tests	
2.1.2 Testmaterial	
2.1.3 Gekaufte Reagenzien	
2.1.4 Antikörper	
2.1.5 Selbst hergestellte Reagenzien	
2.1.6 Einwegartikel	
2.1.7 Geräte	
<b>2.2 Methoden .....</b>	<b>49</b>
2.2.1 Durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenfunktion	
2.2.2 Blutentnahme	
2.2.3 Präparationsschema	
2.2.4 Messung	
2.2.5 Probleme bei der Durchführung dieser Methode	
2.2.6 Auswertung	
<b>2.3 Patientengut .....</b>	<b>59</b>
2.3.1 Zusammensetzung des Normalkollektivs	
2.3.2 Zusammensetzung des MKP-Patientenkollektiv	
2.3.3 Zusammensetzung des MKPS-Patientenkollektiv	

<b>2.4 Statistik .....</b>	<b>62</b>
----------------------------	-----------

### **3. Ergebnisse .....** 63

#### **3.1 Thrombozytenaktivierung bei einem Normalkollektiv .....** 63

- 3.1.1 Zusammensetzung des Normalkollektivs
- 3.1.2 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.28 (CD 63)
- 3.1.3 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.17 (CD 62)
- 3.1.4 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK P 10 (Thrombospondin)
- 3.1.5 Klinische Befunde des Normalkollektivs
- 3.1.6 Komplikationen beim Normalkollektiv

#### **3.2 Thrombozytenaktivierung bei Mitralklappenprolaps (MKP) .....** 65

- 3.2.1 Zusammensetzung des MKP-Kollektiv
- 3.2.2 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.28 (CD 63)
- 3.2.3 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.17 (CD 62)
- 3.2.4 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK P 10 (Thrombospondin)
- 3.2.5 Klinische Befunde des MKP-Kollektiv
- 3.2.6 Komplikationen beim MKP-Kollektiv
- 3.2.7 Thrombozytenaktivierung bei MKP und Mitralinsuffizienz
- 3.2.8 Thrombozytenaktivierung bei MKP und Vorhofflimmern
- 3.2.9 Thrombozytenaktivierung bei MKP und positivem Auskultationsbefund

#### **3.3. Thrombozytenaktivierung bei Mitralklappenprolaps-Syndrom .....** 76

- 3.3.1 Zusammensetzung des MKPS-Kollektiv
- 3.3.2 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.28 (CD 63)
- 3.3.3 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK 2.17 (CD 62)

- 3.3.4 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit AK P 10 (Thrombospondin)
- 3.3.5 Klinische Befunde des MKPS-Kollektiv
- 3.3.6 Komplikationen beim MKPS-Kollektiv
- 3.3.7 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und Mitralinsuffizienz
- 3.3.8 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und Vorhofflimmern
- 3.3.9 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und positivem Auskultationsbefund

### **3.4 Statistischer Vergleich der Kollektive ..... 88**

- 3.4.1 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKP-/MKPS-Kollektiv
- 3.4.2 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKP-Kollektiv
- 3.4.3 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKPS-Kollektiv
- 3.4.4 Vergleich : MKP-Kollektiv vs. MKPS-Kollektiv
- 3.4.5 Abschließender Vergleich aller Kollektive

## **4. Diskussion ..... 102**

### **4.1 Diagnostische Bedeutung der Ergebnisse ..... 102**

- 4.1.1 Vorteile der Durchflußzytometrie bei der Analyse der Thrombozytenfunktion
- 4.1.2 Welcher Antikörper spiegelt welche Art der Thrombozytenaktivierung wieder ?
- 4.1.3 Zusammenhang zwischen jeweiliger klinischer Situation und der Expression spezifischer Oberflächenepitope der Thrombozyten
- 4.1.4 Bedeutung der lokalen und der peripheren Thrombozytenaktivierung
- 4.1.5 Mögliche Mechanismen der Thrombozytenaktivierung bei MKPS
- 4.1.6 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Studien zur Thrombozytenaktivierung bei MKP und MKPS
- 4.1.7 Thromboembolische Komplikationen bei gesteigerter Thrombozytenaktivierung

### **4.2 Prognostische Bedeutung der Ergebnisse ..... 135**

**4.3 Therapeutische Bedeutung der Ergebnisse ..... 137**

**5. Zusammenfassung ..... 141**

**6. Literaturverzeichnis**

**7. Anhang**

# *1. Einleitung*

**5 bis 20 % der Normalbevölkerung zeigen einen echokardiographisch nachweisbaren Mitralklappenprolaps (MKP), der sich durch eine systolische Vorwölbung der myxomatös veränderten Mitralsegel in den linken Vorhof auszeichnet.**

**Vom Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS) spricht man bei einer weitergehenden myxomatösen Verdickung der Mitralsegel in Verbindung mit bestimmten klinischen Symptomen (z.B. pektanginösen Beschwerden bei unauffälligem Koronarangiogramm) und einer erhöhten Inzidenz thromboembolischer und kardialer Komplikationen.**

**Zusätzlich soll beim MKPS eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung aufgrund einer (primären) Endotheldysfunktion bestehen.**

**Ziel dieser Arbeit ist es, das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung beim MKP und beim MKPS mittels monoklonaler Antikörper durchflußzytometrisch zu untersuchen. Dabei interessiert besonders, ob und in welchem Maße beim MKPS eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung vorliegt, und inwieweit die verwendete Methode zur Differenzierung und Risikostratifizierung bei Patienten mit MKP und MKPS herangezogen werden kann.**

## *1.1 Aufbau und Funktion der Mitralklappe*

Für das Verständnis von MKP und MKPS sind der Aufbau und die Funktion der Mitralklappe von grundlegender Bedeutung.

Die Mitralklappe befindet sich zwischen linkem Vorhof (LA) und linkem Ventrikel (LV). Aufgrund der erheblichen Druckunterschiede zwischen Systole und Diastole einerseits und dem linken Vorhof und der linken Kammer andererseits weist die Mitralklappe eine sehr große Druckbelastung auf [169]. Durch diese im Vergleich zu den Herzklappen des kleinen Kreislaufs erheblich größere Druckbelastung der Herzklappen des großen Kreislaufs treten Herzklappenfehler häufiger im Bereich der Mitralklappe und Aortenklappe als im Bereich der Trikuspidal- bzw. Pulmonalklappe auf.

So machten beispielsweise 1985 die Aortenklappenfehler 65 %, die Mitralklappenfehler 29 % und die kombinierten Mitralklappen- und Aortenklappenfehler 6 % der erstmals diagnostizierten Klappenfehler aus [53].

Der Aufbau der Mitralklappe, die aus den 4 Hauptkomponenten Mitralling, Mitralsegel und den Papillarmuskeln mit den Chordae tendinae (Sehnenfäden) besteht, ermöglicht im Normalfall eine Bewältigung dieser erheblichen Druckbelastung.

### **Mitralling (Annulus)**

Der Mitralling besteht aus kompaktem Bindegewebe, welches sich bis in die Fibrosa der Mitralsegel fortsetzt. Der dem Herzskelett zugehörige Mitralling dient demnach unter anderem der bindegewebigen Unterstützung der Mitralsegel. In seinem anatomischen Aufbau weist der Mitralling erhebliche Variationen auf, so dass manche Autoren das Konzept der „Aorto-Ventrikulären Membran“ vorgeschlagen haben, da der Mitralling eher einem Vorhang als einer Ringstruktur entspricht. Entscheidend ist jedoch, dass der Mitralling eine bindegewebige Verbindung zwischen Vorhof- und Kammermyokard darstellt, die sich unterstützend in die Mitralsegel fortsetzt [14].

Die normale Öffnungsfläche der Mitralklappe beträgt 4-6 cm<sup>2</sup> [53], die Klappenringfläche beträgt 7,5-8,5 cm<sup>2</sup> und der Klappenringumfang beträgt 8-10 cm (Echokardiographische Messung unterhalb der Aortenklappe im Querschnitt) [169].

### **Mitralsegel**

Die 2 Segel der Mitralklappe (AML, PML) sind über die Papillarmuskeln (Mm. papillaris) mit den Chordae tendinae an der Wand des linken Ventrikel (LV) befestigt, wodurch ein Zurückschlagen der Mitralsegel in den linken Vorhof (LA) während der Systole normalerweise verhindert wird [124].

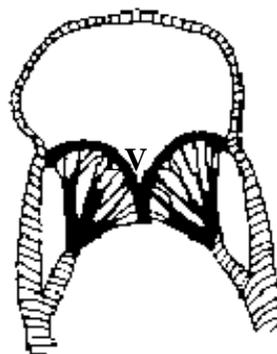


Abbildung 1.1: Aufbau der Mitralklappe [169]

Je nach Art der Insertion der Chordae tendinae können drei Zonen des Mitralsegels bei der geöffneten Klappe unterschieden werden. Als erstes die „rough zone“, an deren ventrikulärer Oberfläche die Chordae inserieren und in deren Bereich beide Mitralsegel zusammenkommen. An dieser Klappenschlußlinie finden sich kleine knötchenartige Verdickungen. Die zweite Zone, die als „clear zone“ bezeichnet wird, hat keinerlei direkte Verbindung mit den Chordae tendinae und liegt zwischen der „rough zone“ und der dritten Zone. Diese dritte Zone wird als „basal zone“ bezeichnet und zeichnet sich durch die Insertion der basalen Chordae tendinae aus [14].

Das vordere Mitralsegel (AML), das halbmondförmig ist und in seiner Ausdehnung größer als das hintere (PML) ist, nimmt ein Drittel des Klappenumfangs ein, wohingegen das hintere Mitralsegel, das 2 Einkerbungen und 3 Ausbuchtungen aufweist, zwei Drittel des Klappenumfangs einnimmt [169].

Histologisch bestehen die Mitralsegel aus 3 Schichten [169] :

1. Atrialis/Ventricularis (Endokard)
2. Spongiosa                      Fibrosa
3. Fibrosa    Ventricularis



Abbildung 1.2: Histologischer Normalbefund des Mitralsegels [169]

Die Atrialis/Ventricularis besteht aus Kollagen und Bindegewebe und entspricht dem Endokard des linken Vorhofs und des linken Ventrikel [169]. Im Alter kommt es physiologischerweise zu einer Verdickung dieser Schicht durch die Zunahme an elastischen und kollagenösen Fasern [14, 15, 16].

Die Spongiosa besteht aus einer schmalen Schicht myxomatösen Bindegewebes und die Fibrosa, die den größten Teil der Klappe einnimmt, besteht aus elastischen Kollagen-fasern, wobei ein Teil dieser Fasern zum Mitralling zieht [169]. Bei den teilweise zusätzlich vorhandenen knötchenartigen Verdickungen an den Klappenrändern handelt es sich um eigenständige fibroelastische Plaques, die von den fibrösen Strukturen im Innern der Mitralsegel unabhängig sind [14, 15, 16]. Die Mitralsegel haben normalerweise eine Dicke von 1-4 mm (Echokardiographische Messung im links-

parasternalen Längs- und Querschnitt, im apikalen Vierkammerblick und im M-Mode in der Mitte der EF-Strecke) und können jedoch, wie zum Beispiel bei Mitralklappenprolaps-Syndrom oder Mitralklappenendokarditis, auf  $\geq 5$  mm verdickt sein [169].

### **Papillarmuskeln**

Von den Papillarmuskeln, die im Ventrikel anterolateral und posteromedial angeordnet sind, geht die Mehrzahl der Chordae tendinae aus. Die Papillarmuskeln dienen vor allem der Zugregulation der Chordae und damit dem optimalen Klappenschluss. Außerdem reduzieren die Papillarmuskeln die mechanische Belastung der Chordae, indem sie dem Herzzyklus entsprechend einen Teil der Zugkräfte absorbieren, die durch Klappenöffnung und -schluß entstehen. In ihrer Funktion werden die Papillarmuskeln durch Teile des Ventrikelmyokards unterstützt [14, 15, 16].

### **Chordae tendinae (Sehnenfäden)**

Von jedem der beiden Papillarmuskeln gehen 12 Chordae tendinae aus, die sich weiter aufsplitten, so dass schließlich an der ventrikulären Unterseite der beiden Mitralsegel zusammen circa 120 Chordae tendinae ansetzen. Zusätzlich entspringen weitere Chordae auch direkt von der hinteren Wand des Ventrikel und setzen ebenfalls an der Unterseite an [124, 125]. Durch diese Aufspaltung der Chordae tendinae entstehen Chordae erster, zweiter und dritter Ordnung, die entsprechend an Umfang in Richtung Mitralklappenunterseite abnehmen. Des Weiteren können die Chordae anhand funktioneller und morphologischer Kriterien unterschieden werden.

In der Literatur wird zwischen „Commissural Cords“ und „Leaflet Cords“ unterschieden, wobei letztere wiederum aus den drei Untergruppen „Rough Zone Cords“, „Basal Cords“ und „Cleft Cords“ bestehen (s.o.).

Histologisch bestehen die Chordae tendinae aus bindegewebigen Schichten, deren Kollagenfasern entsprechend der Beanspruchung vorwiegend longitudinal angeordnet sind [14, 15, 16].

Das Blut passiert auf dem Weg vom linken Vorhof in den linken Ventrikel teilweise auch den Zwischenraum der Chordae tendinae, so dass eine pathologische Verklebung der Chordae tendinae indirekt zu einer Verengung der Mitralöffnung führen kann [124].



## 1.2 Der Mitralklappenprolaps (MKP)

### 1.2.1 Definition des Mitralklappenprolaps

Der Begriff des Mitralklappenprolaps (MKP) beschreibt die echokardiographisch nachgewiesene systolische Vorwölbung eines oder beider Mitralsegel in den linken Vorhof (LA) (holosystolischer Prolaps  $\geq 3$  mm, spätsystolischer Prolaps  $\geq 2$  mm;  $\rightarrow$  1.2.4) [51].

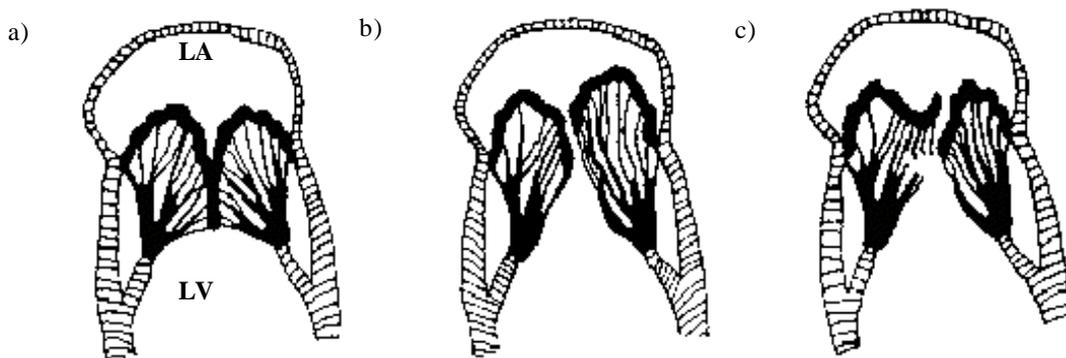


Abbildung 1.3 : Mitralklappenprolaps a) ohne Mitralklappeninsuffizienz, b) mit Mitralklappeninsuffizienz, c) mit Mitralklappeninsuffizienz und Sehnenfadenruptur [169]

### 1.2.2 Ätiologie des Mitralklappenprolaps

Der primäre MKP weist eine multifaktorielle Ätiologie auf [162], wobei zumeist Fehlfunktionen einzelner oder mehrerer Bauelemente der Mitralklappe (Mitralsegel, Mitralklappenring, Chordae tendinae, Papillarmuskeln) als Ursache der echokardiographisch nachgewiesenen systolischen Vorwölbung in den Ventrikel angesehen werden.

#### *Veränderungen der Mitralsegel*

Pathologisch-anatomisch findet man unregelmäßig konturierte Mitralsegel [35], deren Form einem ausgebreiteten Fallschirm entspricht. Barlow prägte für das systolische Vorwölben derart geformter Mitralsegel den Begriff des „billowing“ [114].

Im Gegensatz zu Mitralklappen nach Ablauf eines rheumatischen Fiebers, die eine Rigidityzunahme aufweisen, sind die Mitralklappen beim MKP meist weich.

### ***Pathologische Veränderungen der Sehnenfäden***

Die Chordae tendineae sind beim MKP entweder verdickt und fibrosiert oder ausgezogen und verdünnt, was die Tendenz zur Sehnenfadenruptur mit anschließender Entstehung einer Mitralinsuffizienz erklärt [2]. *Baker* und *Bansal* [14,15] zeigten, dass die Sehnenfäden bei MKP signifikant länger sind als bei normalen Mitralklappen.

Ob diese morphologischen Veränderungen der Chordae primärer oder sekundärer Natur sind, ist ebenso Gegenstand der Diskussion, wie die Frage, ob Sehnenfadenrupturen Ursache oder Folge des MKP sind [160, 14, 15].

### ***Mitralringveränderungen***

Eine pathogenetische Beziehung zwischen Mitralringdilatation, -dehiszenz und -calcifizierung und dem MKP wird ebenfalls diskutiert [14, 15, 35, 169].

### ***Fehlfunktion des Myokards und der Papillarmuskeln***

*Jersaty* [62] beschrieb 1975 verschiedene Möglichkeiten der Entstehung eines MKP aufgrund myokardialer Faktoren, so zum Beispiel die abnorme Vorwölbung des unteren Anteils des linken Ventrikel, wodurch sich die Papillarmuskeln und damit die Chordae tendinae in Richtung Klappe verlagern und damit den Prolaps des Mitralsegels erst ermöglichen. Des Weiteren beschrieb *Jersaty* [62], dass es beim MKP zu einer spät-systolischen Expansion des Einflusbereiches des linken Ventrikel und zu Asynergien im Kontraktionsablauf des linken Ventrikel kommt.

Als weitere Ursachen des MKP werden segmentale Kontraktionsstörungen des linken Ventrikel und eine durch lokale Ischämie bedingte Papillarmuskeldysfunktion, die durch Vasokonstriktion der den Papillarmuskel versorgenden arteriellen Gefäße verursacht werden soll, diskutiert [11, 14, 15].

### ***Ätiologie des sekundären Mitralklappenprolaps*** [169] :

Beim sekundären Mitralklappenprolaps handelt es sich um die echokardiographisch nachgewiesene Vorwölbung der Mitralsegel in den Vorhof auf dem Boden vielfältiger Ursachen, so zum Beispiel bei Systemerkrankungen mit Bindegewebsteilnahme (Marfan-Syndrom [45], Pseudoxanthoma elasticum [77, 112], Ehlers-Danlos-Syndrom, Osteogenesis imperfecta, Morbus Fabry, mixed connective tissue disease (MCTD) [45]), bei angeborenen oder erworbenen Herzerkrankungen (Vorhofseptumdefekt (v.a. Sekundumtyp), nach Mitralkommissurotomie, bei hypertropher Kardiomyopathie, bei Contusio cordis, bei Papillarmuskeldysfunktion im Rahmen einer KHK, bei

Pericarderguß als „Pseudoprolaps“, postentzündlich nach Endokarditis, bei progressiver Muskeldystrophie, beim linksatrialen Myxom, bei endokrinologischen Erkrankungen (Akromegalie [35], Hyperthyreose, M. Basedow [35, 67, 45]) und bei Anorexia nervosa.

### **1.2.3 Epidemiologie des Mitralklappenprolaps**

Der Mitralklappenprolaps ist mit einer Inzidenz von 5-20 % in der Gesamtbevölkerung die häufigste Klappenanomalie [45, 51, 35].

Die *Framingham-Studie* [80, 128, 129, 130] zeigte bei 4967 Probanden eine MKP-Prävalenz von 7,6 % bei Frauen und 2,5 % bei Männern (M-mode Echokardiographie). Andere Studien zeigten echokardiographisch eine MKP-Prävalenz von 0,5 % bis 7 % bei Männern und 1 % bis 21 % bei Frauen, auskultatorisch eine MKP-Prävalenz von 0,4 % bis 17 %, und autoptisch eine MKP-Prävalenz von 1 bis 8 % [28, 29, 80, 128, 129, 130]. In der Literatur hat sich die Annahme einer MKP-Prävalenzrate von circa 5 % in der Gesamtbevölkerung durchgesetzt, wobei vor allem junge Frauen und Patienten in kardiologischer Behandlung höhere Prävalenzraten aufweisen dürften [2, 51]

### **1.2.4 Diagnose des Mitralklappenprolaps**

Die Diagnose des MKP stützt sich vor allem auf den echokardiographischen Befund [105] und wird durch Klinik, Auskultation, Phonokardiographie, Elektrokardiogramm und Laevokardiographie weiter abgerundet.

#### ***Auskultation***

Bei der Auskultation findet man zum einen ein mesosystolisches Klick-Geräusch und zum anderen ein spätsystolisches Geräusch („late systolic murmur“). Das MKP-typische Klick-Geräusch soll durch Anspannung und Dehnung von Chordae tendinae und Mitralklappensegel hervorgerufen werden [51].

Dem spätsystolischen Auskultationsbefund entspricht normalerweise ein spätsystolischer Prolaps. Bei holosystolischem Geräusch findet man meist auch einen holosystolischen Prolaps, jedoch nur selten (10 %) einen Klick [24]. Andere Autoren [51] bringen das spätsystolische Geräusch auch mit

einer eventuell gleichzeitig vorhandenen geringgradigen Mitralinsuffizienz in Verbindung ( $\leftrightarrow$  3.2;  $\rightarrow$  4).

Der Auskultationsbefund beim MKP weist eine Sensitivität von 77 % und eine Spezifität von 40 % auf [86]. Da ein Auskultationsbefund jedoch in 30-50 % der Fälle fehlt und sich im Laufe der Jahre auch verändern kann [24], ist die Auskultation als alleiniges Diagnosemittel für die Diagnose eines MKP bei weitem nicht ausreichend.

*Chandraratna* und *Shah* [14, 15] weisen darauf hin, dass Auskultationsbefunde, die denen beim MKP ähneln, auch bei anderen Erkrankungen auftreten können. So kann es bei Septumsaneurysmen und bei linksseitigem Pneumothorax zum Auftreten eines Klick-Geräusches kommen und bei Papillarmuskeldysfunktion und bestimmten Herzvitien (z.B. Mitralinsuffizienz, ASD, ASD) können unter Umständen spätsystolische Geräusche („systolic murmur“) auskultiert werden.

### ***Echokardiographie***

Nach pathologisch-anatomischen Studienvergleichen weist die Echokardiographie eine Sensitivität von 85 % und eine Spezifität von 99 % auf und ist damit zum Nachweis eines MKP das Diagnosemittel der Wahl [24, 134].

Die Diagnose eines Mitralklappenprolaps mittels **M-Mode-Echokardiographie** wird dann gestellt, wenn die CD-Linie (Verbindungsline zwischen Schluß- und Öffnungspunkt der Mitralklappe) hängemattenartig und als durchgängige Echolinie nach dorsal bzw. in Richtung Vorhof verlagert ist (holosystolischer Prolaps  $\geq 3$  mm, spätsystolischer Prolaps  $\geq 2$  mm). [24, 37, 167, 169].

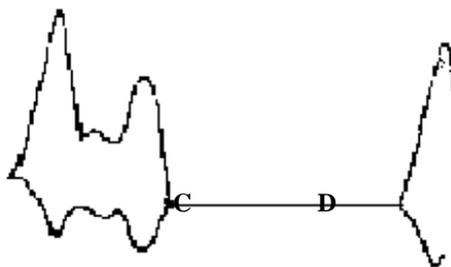


Abbildung 1.5: **M-mode:** Echokardiographischer Normalbefund der Mitralsegel [169]

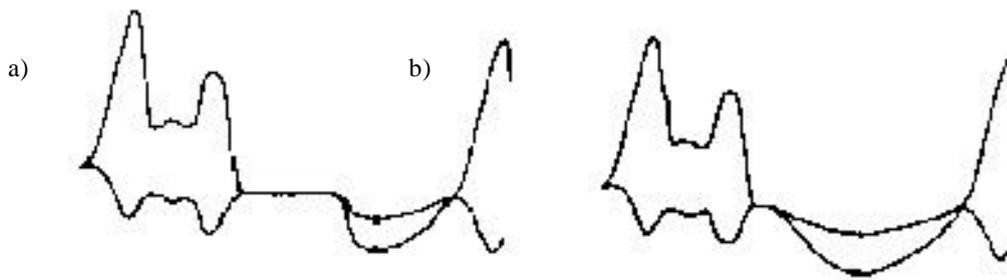


Abbildung 1.6: **M-mode**: Echokardiographischer Mitralklappenprolaps [169]  
 (a: spätsystolisch, 2 mm; b: holosystolisch, 3 mm)

Wichtig ist bei dieser Art der Darstellung, dass vom „Standard-Interkostalraum“ aus geschallt wird, da ein Prolaps durch die Wahl eines höheren Interkostalraums vorgetäuscht werden kann. Zusätzlich können eine hohe DE-Amplitude (Öffnungsamplitude des vorderen Mitralsegels), eine Berührung des vorderen Mitralsegels mit dem Punkt E am Kammerseptum und Mehrfachechos bei Verdickung der Segel vorgefunden werden, wobei es sich hierbei nicht um obligate Zeichen des MKP handelt. Eine Unterscheidung zwischen dem Prolabieren des vorderen oder des hinteren Mitralsegels ist in dieser Darstellung nicht möglich [14, 15].

Die Klappensegel weisen bei der M-Mode-Echokardiographie normalerweise eine Segeldicke von 1-4 mm auf (Diastolische Messung im links-parasternalen Längs- und Querschnitt, im apikalen Vierkammerblick und im M-Mode in der Mitte der EF-Strecke) [102, 103].

Bei der **zweidimensionalen-Echokardiographie (2D-Echo)** diagnostiziert man den Prolaps, wenn sich die Mitralsegel systolisch in den linken Vorhof vorwölben und dabei die Linie des Mitralsrings überschreiten (Vier-Kammer-Blick; → Abb.: 1.7).

Zusätzlich können auch das Berühren beider Segel während der Systole und das Durchwölben im parasternalen Längsschnitt für die Diagnose wegweisend sein [24].

Die zweidimensionale Echokardiographie soll bei der Diagnose des Prolaps des vorderen Segels der Herzkatheteruntersuchung überlegen sein [14, 15].

Im 2D-Echo kann zudem die Morphologie der Mitralsegel recht gut beurteilt werden, so dass oftmals auch myxomatöse Verdickungen der Mitralsegel und Sehnenfadenläsionen diagnostiziert werden können.

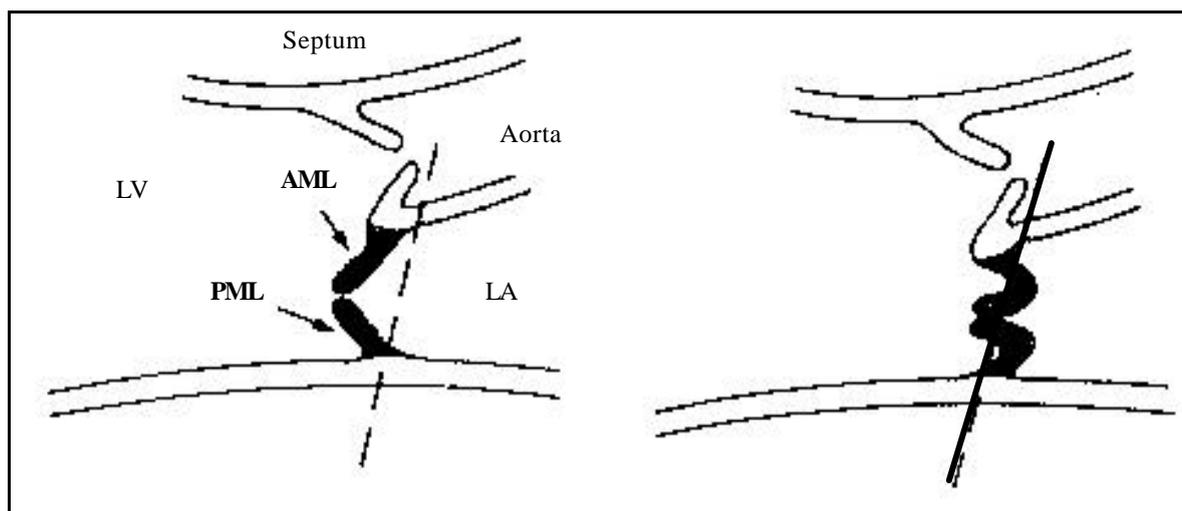


Abbildung 1.7: 2-D-Echo, Zweikammerblick : Normalbefund (links) und Mitralklappenprolaps (rechts) [169]

*Lax et al.* [76] berichten, dass bei Patientinnen mit MKP-typischem Körperbau, aber ohne MKP, durch Dehydration mittels Gabe eines Diuretikums ein MKP und begleitende Herzgeräusche induziert werden können. Nach Rehydration bildeten sich der MKP und die entsprechenden begleitenden Herzgeräusche wieder zurück. Diese Beobachtungen können möglicherweise das Auftreten eines MKP bei Patienten mit Anorexia nervosa erklären. *Chandraratna* und *Shah* [14, 15] schlagen in diesem Zusammenhang den Begriff des „funktionellen MKP“ vor, der vom „pathologisch-anatomischen MKP“ abzugrenzen ist.

Die **Doppler-Echokardiographie** gibt Auskunft über das Vorliegen einer zusätzlichen Mitralinsuffizienz (s.u.), hat sich aber zur Beurteilung des MKP aufgrund fraglicher Aussagekraft nicht bewährt [23, 24].

*Zenker et al.* [175] haben die **Transthorakale Echokardiographie (TTE)** mit der **Transösophagealen Echokardiographie (TEE)** bezüglich der MKP-Inzidenz verglichen. Obwohl im TEE häufiger ein MKP diagnostiziert wurde als im TTE (60 % vs. 50 %) und die eventuellen Veränderungen der Mitralsegel im TEE entschieden besser diagnostiziert werden konnten, fanden sich bezüglich der MKP-Inzidenz keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Methoden.

Ein MKP wird im TEE diagnostiziert, wenn sich die Mitralsegel mehr als 3 mm über die Klappenebene hinaus in den linken Vorhof hineinwölben. Die Segeldicke kann während der späten Systole gemessen werden, indem man EKG-gesteuert am Ende der T-Welle die Dicke der Mitralsegel in der Mitte einer Linie zwischen dem Berührungspunkt der Mitralsegel und dem Mitraring mißt.

Zusammenfassend kann die routinemäßige Diagnosestellung des MKP mittels TTE im M-Mode-Echo und mittels 2D-Echo empfohlen werden [24].

In manchen Fällen sollte die Diagnose anhand Transösophagealer Echokardiographie (TEE) [175] abgerundet werden, um vor allem bei Patienten mit zerebralen Ischämien oder anderen schwerwiegenden Komplikationen eine genauere Beurteilung des MKP-Charakters und eine eventuelle Abgrenzung gegenüber dem MKPS (→ 1.3) zu ermöglichen.

### ***Elektrokardiogramm***

Bei MKP-Patienten werden, wenn man von teilweise vorhandenen unspezifischen ST-T-Veränderungen und Q-Zacken absieht, meistens keine spezifischen Veränderungen im Elektrokardiogramm beobachtet [35, 114].

### ***Ergometrie***

Die Ergebnisse der ergometrischen Untersuchung sind bei MKP-Patienten im Gegensatz zu den MKPS-Patienten überwiegend unauffällig, wobei unter Belastung teilweise MKP-typische Symptome und unspezifische EKG-Veränderungen auftreten können.

### ***Klinische Symptomatik***

In circa 20 % der Fälle fehlen jegliche klinische Symptome, die auf einen MKP hinweisen könnten. Die Patienten sind klinisch völlig beschwerdefrei und werden durch die Mitteilung, dass sie einen „Herzklappenfehler“ aufweisen, stark beunruhigt.

Beim Mitralklappenprolaps können einzelne Symptome, die auch beim Mitralklappenprolaps-Syndrom auftreten, beobachtet werden, so zum Beispiel Thoraxschmerzen, Palpitationen, Dyspnoe, Schwindel und Synkopen [2], wobei diese klinischen Symptome seltener und deutlich schwächer ausgeprägt sind als beim MKPS.

### ***Herzkatheteruntersuchung***

Obwohl es mittels linksventrikulärer Angiographie zuerst gelang, die Herkunft des Klicks und des spätsystolischen Geräusches zu diagnostizieren, ist dieses Verfahren in der Routinediagnostik des

MKP nicht gebräuchlich. Zudem ist trotz einer Sensitivität von annähernd 100 % nur eine Spezifität von 58 % gegeben und die Bewertung in punkto MKP wohl auch recht subjektiv [24].

Grundsätzlich kann jedoch sowohl in der RAO- wie auch in der LAO-Projektion ein systolisches Vorwölben der Mitralklappen beobachtet werden.

Eine Herzkatheteruntersuchung wird meistens nicht aufgrund der Verdachtsdiagnose MKP, sondern zur Abklärung einer fraglichen Angina pectoris oder koronaren Herzkrankheit (KHK) durchgeführt. Die Differentialdiagnose zwischen Angina pectoris und MKP mit pektanginösen Beschwerden („Thoraxschmerzen“) wird durch die Tatsache erschwert, dass ein sekundärer MKP auch durch Papillarmuskeldysfunktion bei KHK auftreten kann. So fand sich in einem Kollektiv von 202 KHK-Patienten in 10 % der Fälle ein Hinweis auf einen sekundären MKP [35].

## **1.2.5 Komplikationen des Mitralklappenprolaps**

### ***Mitralinsuffizienz***

Je nach Studie tritt bei 3-9 % der MKP-Träger im Laufe von 10-40 Jahren eine hämo-dynamisch-relevante Mitralinsuffizienz auf [35], wobei Männer (ca. 4 %) ein höheres Risiko als Frauen (ca. 1,5 %) aufweisen sollen [114]. Der MKP ist in den entwickelten westlichen Ländern eine der häufigsten Ursachen einer schweren Mitralinsuffizienz [28, 29] und soll bei 30-40 % der Patienten, bei denen ein operativer Ersatz der Mitralklappe bei schwerer Mitralinsuffizienz durchgeführt wird, ätiologisch zu Grunde liegen [35].

Eine Mitralinsuffizienz bei MKP entsteht zumeist durch Sehnenfadenabriß, Sehnen-fadenelongation [35] oder eine zunehmende Mitralanulusdilatation [124, 125, 146]. Die Zeitspanne zwischen erstmaliger Feststellung eines Geräusches und einer eventuellen Klappenoperation ist mit 20 Jahren recht lang, da die Mitralinsuffizienz nur sehr langsam entsteht und fortschreitet [146].

### ***Sehnenfadenruptur***

Die Angaben über die Prävalenz von Sehnenfadenrupturen bei MKP schwanken zwischen 22 und 80 % in pathologischen bzw. autoptischen Untersuchungen und zwischen 7 und 11 % bei echokardiographischen Untersuchungen, wobei 90 % aller spontanen Sehnenfadenrupturen durch einen MKP verursacht sind [14, 15].

### ***Endokarditis***

Patienten mit MKP ohne Mitralsuffizienz und ohne eine Verdickung der Mitralsegel, haben eine Endokarditisinzidenz von 1/20.000 Patientenjahre. Damit weisen sie in etwa die Endokarditisinzidenz der normalen Erwachsenenbevölkerung auf, so dass eine Endokarditisprophylaxe nicht notwendig ist [84, 107, 169].

### ***Synkopen***

Synkopen (4%/MKP-Patienten [35]) und Schwindel (30-35 %/MKP-Patienten) scheinen mit Abstand die häufigste Komplikation bei MKP zu sein, wobei als Ursache der Synkopen Arrhythmien mit Blutdruckabfall und konsekutiver Verminderung der zerebralen Durchblutung angenommen werden. Meist sind Frauen um das dreißigste Lebensjahr betroffen, wobei die Abgrenzung hinsichtlich anderer Ursachen (z.B. Hypotonie, vegetative Störungen) schwierig sein kann.

### ***Herzrhythmusstörungen***

In der *Framingham-Studie* [128, 129, 130] konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Häufigkeit von Rhythmusstörungen zwischen MKP-Trägern und Kontrollpersonen nachgewiesen werden.

Ventrikuläre Extrasystolen und supraventrikuläre Extrasystolen sollen die häufigsten Rhythmusstörungen bei MKP sein [35]. Daneben trifft man mit abnehmender Häufigkeit auf supraventrikuläre Tachykardien, Kammertachykardien und selten auch auf Bradykardien.

Eine eindeutige Korrelation zwischen der Häufigkeit von Rhythmusstörungen und der Schwere oder dem Charakter des Prolapsen des Mitralsegels konnte nicht nachgewiesen werden. Ebenso konnte keine Korrelation zwischen der jeweiligen Symptomatik und den entsprechenden Rhythmusstörungen gefunden werden [35]. Allerdings sollen Patienten mit Rhythmusstörungen formal der Klasse II-IV nach Lown signifikant häufiger einen positiven Auskultationsbefund und einen spätsystolischen Prolaps aufweisen [4].

Zur Ätiologie der Rhythmusstörungen bei MKP gibt es unterschiedliche Theorien, wobei der Verschiedenartigkeit der Rhythmusstörungen sicherlich auch verschiedene pathogenetische Mechanismen zugrunde liegen. Es gibt Hinweise auf die Existenz eines zusätzlichen atrioventrikulären Bündels und auf ektope Erregungszentren in den Mitralsegeln. Ebenso wird eine durch vermehrten

Zug der Chordae tendinae verursachte Myo-kardirritation oder -ischämie diskutiert [169]. Andererseits gibt es Hinweise, dass bei rezidivierenden supraventrikulären Tachykardien spontane Aktivitäten von spezifischen Vorhofmuskelfasern der Mitralklappe auf die Vorhofmuskulatur übergehen [35].

Patienten mit Wolf-Parkinson-White-Syndrom (WPW-Syndrom) weisen in 7 bis 68 % der Fälle einen MKP auf (→ 3.2). Man nimmt an, dass es durch die Präexzitation zu einem verändertem Kontraktionsablauf im Ventrikelmyokard mit daraus resultierendem Prolaps der Mitralsegel kommt [170].

### ***Plötzlicher Herztod***

Bei MKP-Patienten mit normalem Ruhe-EKG ohne hämodynamisch bedeutsame Mitralregurgitation soll das Risiko eines plötzlichen Herztodes so niedrig sein, dass sich die Gesamtletalität von Patienten mit MKP nicht signifikant von einer alters- und geschlechtsentsprechenden Kontrollpopulation unterscheidet [33, 102, 103].

## 1.3 Das Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS)

### 1.3.1 Definition des Mitralklappenprolaps-Syndroms

Bei Patienten mit **Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS)** findet man neben dem - vermutlich genetisch determiniertem - systolischen Prolaps der Mitralsegel eine weitergehende myxomatöse Degeneration und Verdickung ( $\geq 5$  mm) der Mitralklappensegel (Diagnose mittels Echokardiographie). Zu diesen echokardiographischen Befunden gesellen sich charakteristische Symptome und Komplikationen.

Das Mitralklappenprolaps-Syndrom zeichnet sich durch folgende Merkmale aus [in Anlehnung an 14 und 169]:

- **Mitralklappenprolaps mit myxomatös verdicktem Mitralsegel ( $\geq 5$ mm)**
- **Klinischer Symptomenkomplex**
- **Komplikationen**
- **erhöhte Thromboembolie-Inzidenz aufgrund Thrombozytenaktivierung**
- **Neuroendokrine und autonome Dysfunktionen**

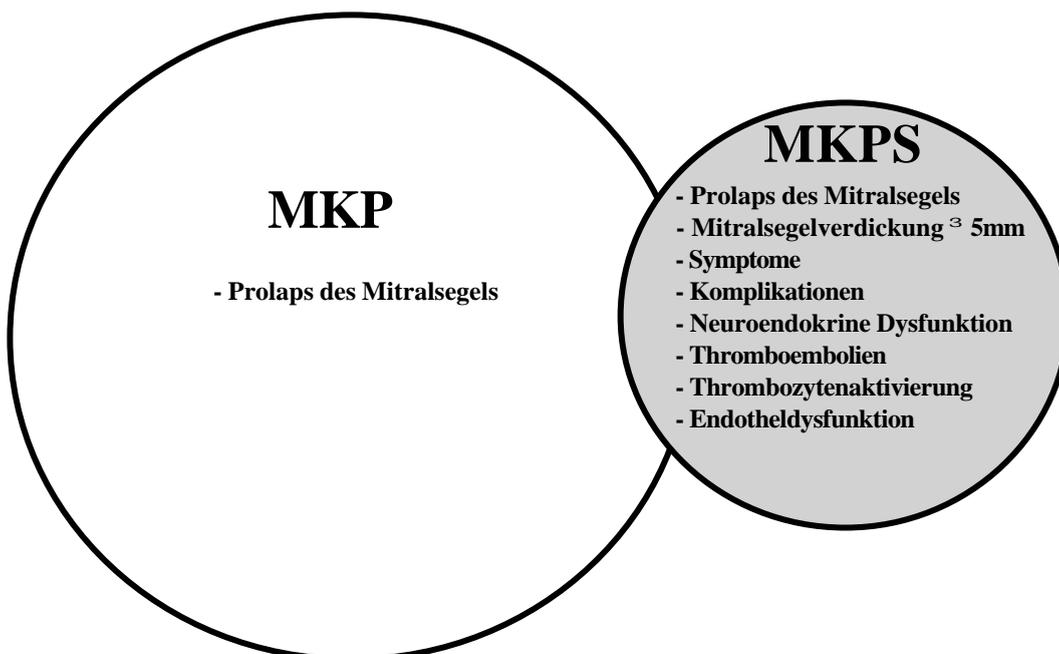


Abbildung 1.8: Definition des MKP und des MKPS

Patienten mit MKPS zeigen oftmals Angina-pectoris-Beschwerden und ein pathologisches Belastungs-EKG (nach Belastungsende zunehmende Kammerendteil-veränderungen, die erst einige Minuten nach Belastungsende ihr Maximum erreichen und sich nur sehr langsam zurückbilden) bei gleichzeitigem koronarangiographischen Ausschluss einer koronaren Makroangiopathie.

Zusätzlich soll eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung auf dem Boden einer Endotheldysfunktion vorliegen, die eine erhöhte Thromboembolieinzidenz (TIA, Amaurosis fugax) nach sich zieht.

Das Bild des MKPS wird durch eine Reihe von Zusatzbefunden, wie zum Beispiel psychiatrische Erkrankungen und neuroendokrine Dysfunktionen, vervollständigt.

Die für die vorliegende Arbeit verwendete Definition stützt sich vornehmlich auf den echokardiographischen Befund (Bewegungsmuster, Form und Verdickung der Mitral-klappensegel) in Zusammenschau mit den klinischen Befunden (Symptome, Komplikationen, Begleiterkrankungen). Die echokardiographische Beurteilung der Mitralklappe (myxomatöse Verdickung) ist gut objektivierbar und erlaubt unter Einbeziehung anamnestischer Daten in den meisten Fällen eine eindeutige Abgrenzung zwischen MKP und MKPS.

In der Literatur finden sich zum Teil recht uneinheitliche Definitionen des Mitral-klappenprolapses (MKP) und des Mitralklappenprolaps-Syndroms (MKPS), so dass eine verbindliche Identifizierung und Charakterisierung der MKPS-Patienten bislang Schwierigkeiten bereitet. So wurden die Begriffe MKP und MKPS vor allem im anglo-amerikanischen Schrifttum teilweise synonym gebraucht [7, 128] oder es wurde zwischen asymptomatischem MKP (=MKP) und symptomatischem MKP (=MKPS) unterschieden [47]. Einige der Autoren grenzen das MKPS einzig durch das zusätzliche Vorhandensein eines systolischen Klick-Geräusches („Klick-Syndrom“) vom MKP ab [138, 166]. Eine andere Gruppe von Autoren [11, 105] sehen das MKPS als MKP mit klinischen Symptomen und Komplikationen (kardial und nicht-kardial) an, wobei hierbei die Einordnung des jeweiligen Patienten zumeist erst retrospektiv erfolgen kann und das individuelle Risiko erst nach eventuellen Beschwerden oder Komplikationen eingeschätzt werden kann. Eine weitere Autorengruppe, zu der unter anderem *Boudoulas* [14, 15] gehört, ordnet dem MKPS sowohl klinische als auch neuroendokrine Befunde zu. *Boudoulas* weist jedoch einschränkend darauf hin, dass die pathogenetische Beziehung zwischen dem Symptomenkomplex und dem Mitralklappenprolaps beim MKPS letztlich unklar bleibt. Er hält es auch für denkbar, dass sich ein

unabhängiger Symptomenkomplex gerade bei Patienten mit einem Mitralklappenprolaps manifestiert, jedoch nicht durch diesen hervorgerufen wird.

Eine letzte, in Detailfragen sehr heterogene Gruppe von Autoren [102, 103] sieht die MKPS-Patienten als Patienten mit MKP und einem signifikant erhöhtem Komplikationsrisiko, das vor allem durch ein myxomatös verdicktes Mitralsegel bedingt ist.

Zusammenfassend werden folgende Definitionen des MKPS von den Autoren, die zwischen dem MKP und dem MKPS unterscheiden, benutzt:

- MKP *und* positiver Auskultationsbefund (Klick-Syndrom) [138, 166]
- MKP *und* Symptome (kardial, nicht-kardial) [11, 105]
- MKP *und* Komplikationen [169]
- MKP *und* verdickte Mitralsegel ( $\geq 5\text{mm}$ ) [102, 103]
- MKP *und* Symptome und neuroendokrine Dysfunktion [14,15]

Diese verschiedenen Definitionen und die ungenügende Trennung zwischen MKP und MKPS führten zu höchst unterschiedlichen Beurteilungen der pathogenetischen Verbindung von MKP/MKPS und entsprechenden Komplikationen und zu uneinheitlichen Einschätzungen der Häufigkeitsrate von Komplikationen bei MKP/MKPS. *Nishimura* und *Tajik* [102, 103] weisen in diesem Zusammenhang zu Recht darauf hin, dass die unterschiedliche Beurteilung der Prognose des MKP in der Literatur auch auf der unterschiedlichen Berücksichtigung weiterer begleitender klinischer Befunde beruht, die zu Symptomen und Komplikationen führen (z.B. abnormes Ruhe-EKG, Mitralklappenregurgitation, weitere kardiale Anomalien, etc.).

Die strikte (echokardiographische) Trennung zwischen MKP und MKPS kann dieses Dilemma der zum Teil recht unterschiedlichen Definitionen und Risikoeinschätzungen eventuell auflösen und zu einer einheitlicheren, eindeutigeren Beurteilung eventueller Risiken und Komplikationen der jeweiligen Patienten führen.

Entscheidende Bedeutung gewinnt die Definition des MKPS bei der Frage nach der individuellen Einordnung eines Patienten in eine Gruppe höheren Risikos (MKPS) oder in eine Gruppe niedrigeren

Risikos (MKP), da es hierzu bisher nur unzulängliche prädiktive Beurteilungskriterien gab und eine Identifizierung stärker gefährdeter Patienten meist nur unzuverlässig möglich war [102, 103].

Grundsätzlich ist also nur eine solche Definition des MKPS sinnvoll, die es erlaubt, eine bestimmte Patientengruppe zu identifizieren, die ein höheres Komplikationsrisiko aufweist und die zudem eine gesteigerte therapeutische Aufmerksamkeit benötigt (→ 4. ).

Die für die vorliegende Arbeit verwendete Definition des Mitralklappenprolaps-Syndroms verbindet eine gute diagnostische Objektivierbarkeit (Echokardiographie, Klinik, Anamnese) mit einer gewissen prognostischen Aussagekraft hinsichtlich des thromboembolischen Risikos, da eine Reihe von Studien, so beispielsweise die Langzeitbeobachtungen von *Nishimura* und *Tajik* [102, 103] zeigten, dass die echokardiographische Beurteilung der prolabierenden Mitralklappe und eine Einteilung in Patienten mit normal aussehenden Segeln und solchen mit auf über 5 mm myxomatös verdickten, redundanten Segeln gut mit bestimmten klinischen Parametern und spezifischen thromboembolischen Komplikationen korreliert.

Schließlich erscheint der Zusammenhang zwischen einer beim MKPS echokardiographisch nachgewiesenen myxomatös verdickten Mitralklappe, die unter Umständen zusätzlich noch Fibrin- und Thrombozytenauflagerungen sowie Endothelläsionen aufweist, und bestimmten klinischen Symptomen und thromboembolischen Komplikationen gut vorstellbar (→ 1.4).

### **1.3.2 Ätiologie des Mitralklappenprolaps-Syndroms**

#### ***Myxomatöse Degeneration der Mitralsegel***

Neben den typischen pathologisch-anatomischen Befunden des MKP („Billowing“) findet man beim MKPS eine myxomatöse Verdickung der Mitralsegel und weitergehende myxomatöse Veränderungen der Klappensubstanz, die zu einer die Fibrosa der Klappe verdrängenden Proliferation der Spongiosa führen und die Ergebnis einer Akkumulation von sauren Mucopolysacchariden, Hyaluronidase und Chondroitinsulfat [35] sind, wobei sich histologisch keinerlei Anzeichen einer entzündlichen Veränderung finden [35]. Bei dieser myxomatösen Verdickung der Segel steht die Zunahme der Proteoglykane um etwa 60 % und eine Vermehrung des Elastins im Segelgewebe im Vordergrund der Veränderungen, wobei als Ursache dieser Veränderungen eine fehlerhafte Synthese oder beschleunigte Alterung des Kollagen mit einer vermehrten Anhäufung von sauren Mucopolysacchariden diskutiert wird [51]. Durch die vermehrte

Einlagerung dieser Substanzen in das Klappengewebe und seinen Halteapparat kommt es zu einer Verdickung, Verplumpung, Oberflächenvergrößerung und vor allem Schwächung der Segel mit konsekutivem Prolabieren in den linken Vorhof [169, 170, 171], wobei bei der Transluminierung der MKP-Mitralsegel eine im Vergleich zu normalen Mitralsegeln verminderte Transparenz beobachtet wird [14, 15]. Der Begriff der „floppy valve“ versucht diese Veränderungen, die mit einer Schwächung der dann sehr schlaffen und „schlotterigen“ Mitralsegel verbunden sind, bildlich zu beschreiben [169].

Außerdem sind <sup>3</sup> ~~vielfach~~ <sup>5 mm</sup> auch die Chordae tendinae ausgezogen oder verdünnt, so dass der Klappenapparat schließlich dem Druck im linken Ventrikel während der Kontraktion nachgibt.

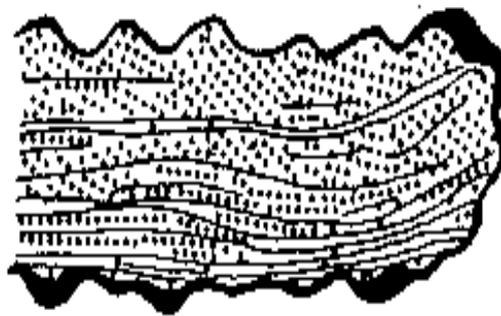


Abbildung 1.9: Histologische Struktur der Mitralklappensegel beim MKPS [169]

In der Literatur wird zudem diskutiert, inwieweit diese myxomatösen Veränderungen Ergebnis einer exzessiven und/oder fehlerhaften Synthese oder eines gestörten Stoffwechsels der sauren Mucopolysaccharide und des Kollagen sind, und inwieweit diese Veränderungen möglicherweise das Resultat eines andauernden mechanischen Stresses aufgrund des veränderten Bewegungsmusters der Mitralklappe sind [14, 15, 87].

Bei Patienten mit Mitralinsuffizienz und bei Patienten mit abnormen Bewegungen der Ventrikelwand konnte diesbezüglich gezeigt werden, dass die Kollagensynthese im Bereich der Mitralsegel (v.a. des vorderen Mitralsegel) bei diesen Patienten um den Faktor 1,8 gesteigert wird (Anfärbung des Prokollagen I mittels markierter monoklonaler Antikörper).

### ***Sehnenfaden- und Mitralingveränderungen***

Die pathogenetische Rolle der Sehnenfäden und die mögliche pathologische Beziehung zwischen Mitralklappenprolaps, Mitralingdilatation, -dehiszenz und -calcifizierung [35], die ebenso für die Entstehung des MKPS von Bedeutung ist, wurde bereits an anderer Stelle ausführlich erörtert (→ 1.1).

### ***Endotheldysfunktion und Thrombozytenaktivierung***

Als Ursachen der thromboembolischen Komplikationen beim MKPS werden in der Literatur neben degenerativen Veränderungen der Mitralklappe, die zur Entstehung von Thromben durch Thrombozyten- und Fibrinablagerungen an der dem Vorhof zuge-wandten Seite der Mitralsegel führen können [169], auch eine primäre Endothel-dysfunktion und eine primär vermehrte Thrombozytenaktivierung diskutiert [51, 131, 132]. Dieser mögliche pathogenetische Zusammenhang einer gestörten Endothel- und Thrombozytenfunktion mit den MKPS-typischen Symptomen und Komplikationen wird an anderer Stelle ausführlich dargestellt (→ 1.4).

### ***Genetische Disposition***

Für das MKPS mit seinen myxomatösen Veränderungen der Mitralsegel und den teilweise zusätzlich vorhandenen Sehnenfadenveränderungen wird in der Literatur aufgrund familiärer Häufungen sowohl eine autosomal-dominante Vererbung [14, 15, 18, 35, 167] als auch eine autosomal-rezessive Vererbung [87] diskutiert, wobei die interindividuellen Unterschiede hinsichtlich der klinischen Befunde, Symptome und Komplikationen bei den einzelnen MKPS-Patienten vermutlich auf einer genetischen Heterogenität beruhen [14, 15, 35]. Nach *Devereux* und *Kramer-Fox* [14, 15] weisen bei Mitralklappenprolaps-Trägern die Verwandten 1. Grades in 30 % bis 50 % der Fälle ebenfalls einen Mitralklappenprolaps auf. Bei Zwillingsstudien wurden ebenfalls weit-gehende Übereinstimmungen im auskultatorischen und echokardiographischen Befund festgestellt. Auch das gehäufte Auftreten eines (sekundären) Mitralklappenprolapses bei vererbten Bindegewebserkrankungen, wie z.B. bei Marfan-Syndrom, Pseudoxanthoma elasticum und Ehlers-Danlos-Syndrom, wurde in der Literatur beschrieben [35, 77, 112]. Des weiteren gibt es Hinweise auf eine Bevorzugung des weiblichen Geschlechtes, wodurch die unterschiedliche Geschlechtsverteilung des MKPS erklärt werden könnte. Außerdem scheint ein echokardiographisch nachweisbarer Mitralklappenprolaps zwischen dem 21. und dem 50. Lebensjahr besonders häufig zu sein, wobei die Ursache für die Abnahme der MKP-Prävalenz im höheren Lebensalter letztlich unklar ist. In der Literatur wird für die Entstehung der myxomatösen Degeneration und Verdickung der Mitralklappe unter anderem eine vermehrte Synthese und/oder ein verminderter Abbau von sauren Mucopolysacchariden, Hyaluronidase und Chondroitinsulfat, sowie ein Fehlen bestimmter Kollagen-Typen (III, AB) vorgeschlagen [87], wobei die genetischen Grundlagen dieser Veränderungen bislang ungeklärt geblieben sind.

### **1.3.3 Epidemiologie des Mitralklappenprolaps-Syndroms**

Die MKPS-Prävalenz liegt sicherlich um ein vielfaches niedriger als die MKP-Prävalenz, die zwischen 5 % und 20 % der Bevölkerung liegt. So gehen z.B. *Werdan* und *Müller* [171] von einer Risikogruppe aus, die  $\leq 5$  % der Patienten mit MKP entsprechen soll. In weiteren Studien wurde ein MKPS-Patientenanteil zwischen 12 % [107] und 30 % [14, 15] der Patienten mit echokardiographischem Nachweis eines Prolaps der Mitralsegel gefunden. Diese Daten sprechen vorsichtig geschätzt für eine MKPS-Prävalenz von etwa 0,25 - 2 % in der Gesamtbevölkerung. Bei internistischen und kardiologischen Patienten hingegen dürfte aufgrund der MKPS-typischen Symptome, wie z.B. Palpitationen, Herzrhythmusstörungen und Synkopen, eine überdurchschnittliche Häufung an MKPS-Patienten zu finden sein [51, 169, 170].

### **1.3.4 Diagnose des Mitralklappenprolaps-Syndroms**

#### ***Auskultation***

Obwohl einige Autoren [138, 166] das MKPS als einen MKP, der mit einem meso-systolischen Klick oder einem spätsystolisches Geräusch verbunden ist, ansehen, sollte dem Auskultationsbefund allein keine zentrale Rolle bei der Diagnosestellung des MKPS eingeräumt werden, da der Auskultationsbefund nur eine Sensitivität von 77 % und eine Spezifität von 40 % aufweist [86, 24].

Des weiteren besteht keine eindeutige Korrelation zwischen dem Auskultationsbefund und den morphologischen bzw. funktionellen Veränderungen, so dass ein entsprechender Auskultationsbefund („Klick“) am ehesten als Anlass für eine echokardiographische Abklärung eines MKPS dienen sollte [51].

#### ***Echokardiographie***

Bei der Diagnose des MKPS steht, ebenso wie bei der Diagnose des MKP, die echokardiographische Beurteilung der Mitralklappe im Vordergrund.

Von entscheidender diagnostischer Bedeutung beim MKPS sind die myxomatösen Veränderungen der Mitralsegel, die echokardiographisch als Verdickung der Mitralsegel meist gut erkannt werden können. Die Klappensegel sind meist wellig und erscheinen auf  $\geq 5$  mm verdickt (Normalwert Segeldicke 1-4 mm; Diastolische Messung im links-parasternalen Längs- und Querschnitt, im apikalen Vierkammerblick und im M-Mode in der Mitte der EF-Strecke) [102, 103].

Wichtig und zugleich schwierig ist die Abgrenzung von der Segelverdickung bei oder nach Mitralklappenendokarditis [35, 169, 171]. Ebenfalls möglich ist die Beurteilung des Mitralklappenringes, wobei sowohl der Klappenringumfang mit 14-19 cm (Normwert : 8-10 cm) als auch die Klappenringfläche mit bis zu  $14,6 \text{ cm}^2$  (Normwert :  $7,5-8,5 \text{ cm}^2$ ) vergrößert sein können (Messung unterhalb der Aortenklappe im Querschnitt) [169].

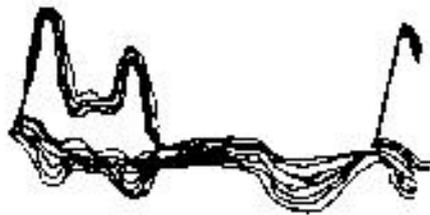


Abbildung 1.10: **M-mode**: Verdickte, redundante Mitralsegel bei MKPS [169]

Die Transösophageale Echokardiographie (TEE) scheint bei der Beurteilung der Morphologie der Mitralsegel der Transthorakalen Echokardiographie überlegen zu sein und liefert beim Patienten mit MKPS in bestimmten Fällen wichtige Zusatzinformationen, so zum Beispiel bezüglich Thrombozytenauflagerungen auf den Mitralsegeln, Sehnenfadenabrissen und einer begleitenden Mitralinsuffizienz [174]. Eine begleitende Mitralinsuffizienz kann zudem mittels Doppler-Echokardiographie identifiziert und exakt quantifiziert werden.

### ***Klinische Symptomatik***

Der klinische Symptomenkomplex setzt sich aus einer Vielzahl von Symptomen zusammen, die in unterschiedlichen Kombinationen und Ausprägungen auftreten können. Ein Teil dieser Symptome ist recht unspezifisch und gewinnt zum Teil erst durch die Diagnose des MKPS an Bedeutung.

Folgende Symptome können dem Symptomenkomplex bei MKPS angehören :

- Angina-pectoris-Beschwerden
- Arrhythmien (Palpitationen)
- Dyspnoe
- Orthostatische Dysregulation
- Präsynkopen und Synkopen
- Adynamie
- Hypotonie
- Flachthorax, Trichterbrust
- Asthenischer Habitus
- Müdigkeit, Abgeschlagenheit, (Fatigue)
- Neuroendokrine und autonome Dysfunktionen [14, 15]
- Neuropsychiatrische Symptome (Angst-/Panikattacken, Migräne und Schlafstörungen)

Zeichen der neuroendokrinen und autonomen Dysfunktion [14, 15] sind hohe Katecholaminspiegel, eine abnorme Regulation der Katecholamine, eine gesteigerte Antwort auf adrenerge Stimulation ( $\beta$ -Rezeptorenanomalie), eine abnorme Sekretion von ANF (atrial natriuretic factor) und damit ein vermindertes intravasales Volumen, ein gestörtes Renin-Aldosteron-Angiotensin-System, eine Überfunktion des Sympathikus bei gleichzeitiger Unterfunktion des Parasympathikus, eine Verminderung des diastolischen Ventrikelvolumen und eine Fehlfunktion der Barorezeptoren und des Baroreflexes bei Orthostase.

### ***Elektrokardiogramm***

Am häufigsten (10-40 %) findet man partielle oder komplette T-Negativierungen, vor allem in den Ableitungen II, III und aVF. Sie können konstant oder inkonstant (aufrechte Körperhaltung, während und nach Belastung) vorhanden sein [87, 169]. Darüber hinaus kommen selten grenzwertige QT-Zeit-Verlängerungen vor. Je nach Zusammensetzung des Kollektivs können 20 bis 60 % der Patienten mit MKPS Veränderungen der Kammerendteile aufweisen (Abflachung oder Inversion der T-Welle in II, III, aVF, V<sub>4-6</sub>), die gegenüber Kammerendteilveränderungen bei koronarer Herzkrankheit abgegrenzt werden müssen [51].

### ***Ergometrie***

Bei bis zu 40 % aller MKPS-Patienten bereiten isoelektrische und deszendierende ST-Streckensenkungen während und vor allem nach Belastung differentialdiagnostische Probleme.

Während bei Patienten mit ischämischer Herzerkrankung unter Belastung progrediente Kammerendteilveränderungen und eine relativ rasche Rückbildung dieser EKG-Veränderungen nach Belastungsende zu beobachten sind, nehmen die Kammerendteilveränderungen bei Patienten mit Mitralklappenprolaps-Syndrom nach Belastungsende meist noch zu, erreichen erst einige Minuten nach Belastungsende ihr Maximum und bilden sich nur sehr langsam zurück [51, 128, 129, 130].

Die Abgrenzung von der Koronarinsuffizienz kann im Einzelfall durch Koronarangiogramm vorgenommen werden, wobei  $\beta$ -Blocker das Auftreten der belastungsinduzierten ST-Streckensenkungen verhindern und die Aussagekraft des Belastungs-EKG steigern können [35, 169]

Die belastungsinduzierten Kammerendteilveränderungen und die teilweise auftretenden pectangiösen Beschwerden bei MKPS-Patienten werden als Hinweis auf eine Endothel-dysfunktion vornehmlich der kleinen Koronargefäße angesehen [7, 51].

Als weitere Ursache der pathologischen Befunde im Belastungs-EKG bei MKPS werden unter anderem myokardiale Ischämien bei Anspannung der Papillarmuskeln und gleichzeitigen Koronarspasmen und eine Regulationsstörung im Verhältnis zwischen Sympathikus und Parasympathikus diskutiert [14, 15].

### ***Isoproterenoltest***

Bei Patienten mit MKPS kann nach einer Infusion des Sympathomimetikums Isoproterenol (Stimulation von sowohl  $\beta_1$ - als auch  $\beta_2$ -Adrenorezeptoren) eine übermäßige Herzfrequenzzunahme und das Auftreten der diesen Patienten vorhandenen Symptome, wie zum Beispiel Thoraxschmerzen, Schwindel, Panikattacken und Präkollaps beobachtet werden, wohingegen bei gesunden Probanden bei der Isoproterenolinfusion in vergleichbaren Konzentrationen lediglich Palpitationen auftreten [169].

Besondere Bedeutung hat der Isoproterenoltest vor allem bei der Auswahl eines geeigneten  $\beta$ -Blockers, da durch Gabe eines  $\beta$ -Blockers zwei Stunden vor dem Test eine deutliche

Befundbesserung erreicht werden kann und man die Medikation individuell angepasst werden kann (→ 4.3). Da der Isoproterenoltest auch bei der Abklärung von Synkopen ähnliche Ergebnisse hervorbringen kann, bleibt es abzuwarten, welche Gemeinsamkeiten, vor allem auf der Ebene der autonomen Dysregulation und des hyperadrenergen Status, diesen Befunden zugrunde liegen [14, 15].

### ***Herzkatheteruntersuchung***

Eine Herzkatheteruntersuchung ist beim MKPS ebenso wie beim MKP diagnostisch nicht notwendig und dient meist zur differentialdiagnostischen Abklärung anderer Herzerkrankungen, wie zum Beispiel einer koronaren Herzkrankheit. Wird eine Herz-katheteruntersuchung durchgeführt, so kann im Lävokardiogramm das Prolabieren der Segel und eine gegebenenfalls vorhandene Mitralinsuffizienz gezeigt werden [169].

Der Koronarstatus ist beim MKPS definitionsgemäß weitestgehend unauffällig und bietet keine Erklärung für die klinischen Symptome. Inwieweit Koronarspasmen und Variationen der Koronarien an der Entstehung von pektanginösen Beschwerden bei MKPS beteiligt sind, bleibt trotz entsprechender Hinweise [11, 14, 15] letztlich unklar.

### ***Myokardszintigraphie***

Bei einem Teil der MKPS-Patienten können mittels Myokardszintigraphie trotz angio-graphisch unauffälligen Koronararterien Perfusionsstörungen nachgewiesen werden, die auf regionale Myokardischämien (i.s.e. Mikroangiopathie) hinweisen [51].

## **1.3.5 Komplikationen des Mitralklappenprolaps-Syndroms**

In der Literatur gibt es - aufgrund einer teilweise sehr unzureichenden Differenzierung zwischen den MKP-Patienten und den MKPS-Patienten - höchst unterschiedliche Standpunkte zu den Komplikationen bei MKP und bei MKPS.

Durch eine strikte Trennung zwischen MKP-Patienten und MKPS-Patienten könnten Unklarheiten hinsichtlich der Prävalenz von Komplikationen beseitigt werden, wobei die dieser Arbeit zu Grunde

liegende MKPS-Definition eine Charakterisierung und damit auch Identifizierung einer Patientengruppe mit einem höheren Komplikationsrisiko ermöglichen soll.

### ***Mitralinsuffizienz***

Das MKPS ist eine der häufigsten Ursachen einer isolierten höhergradigen Mitral-insuffizienz, hervorgerufen durch eine Ausweitung des Mitralklappenringes und/oder durch Sehnenfadenrupturen [102, 103]. Echokardiographisch finden sich ein erweiterter Mitralklappenring und auffällig große Mitralklappensegel, die im parasternalen Längs-schnitt häufig ballonierend zur Darstellung kommen. Das MKPS ist eine recht häufige Ursache für einen Mitralklappenersatz, wobei nach *Marks et al.* [86] nur bei 6,6 % der MKPS-Patienten eine derart schwerwiegende Mitralinsuffizienz besteht, dass sich die Notwendigkeit des operativen Mitralklappen-ersatzes ergibt, wohingegen die Notwendigkeit zum Mitralklappenersatz beim MKP nur in 0,7 % der Fälle besteht..

Obwohl grundsätzlich eher junge Frauen zum MKPS neigen, besteht bei älteren Männern aufgrund einer gesteigerten Häufigkeit von Sehnenfadenrupturen die größte Wahrscheinlichkeit, eine Mitralregurgitationen zu entwickeln, wobei besonders Patienten mit den für das MKPS typischen verdickten Mitralsegeln für die Entwicklung einer Mitralinsuffizienz prädisponiert zu sein scheinen. [102, 103].

### ***Sehnenfadenruptur***

Der Zusammenhang zwischen Sehnenfadenruptur und MKPS war lange Zeit von verschiedenen Autoren in Zweifel gezogen worden, da ein Mitralklappenprolaps typischerweise bei jungen Frauen auftritt, Sehnenfadenrupturen jedoch vornehmlich bei Männern im mittleren und höheren Lebensalter auftreten. Kasuistische Mitteilungen und histopathologische Untersuchungen nach Mitralklappenrekonstruktion und -ersatz lassen jedoch den Schluß zu, dass ein Großteil der Sehnenfadenrupturen, die als idiopathisch angesehen wurden, in Wirklichkeit durch das Vorliegen eines MKPS bedingt waren [169]. Gesicherte Risikofaktoren und verlässliche Angaben zur Häufigkeit der Sehnenfadenruptur bei MKPS existieren jedoch bislang nicht. *Naggar et al.* [98] wiesen zwar bei 23 % von 145 Patienten über 60 Jahren eine Sehnenfadenruptur nach und zeigten, dass Männer doppelt so häufig betroffen waren wie Frauen, dennoch bleiben die Angaben zur Häufigkeit nach Durchsicht der Literatur recht uneinheitlich und wenig aussagekräftig. MKPS-typisch

verdickte Mitralsegel, eine höhergradige Mitralinsuffizienz, voluminöse Mitralsegel und stark elongierte Sehnenfäden scheinen zu einem Sehnenfadenabriß zu prädisponieren [169].

### ***Endokarditis***

*Piper et al.* [52, 107] zeigten bei insgesamt 1626 konsekutiven Patienten, die insgesamt über ungefähr 10.149 Patientenjahre beobachtet worden waren, eine Endokarditis-häufigkeit von 0,0146 % pro Jahr bei den Patienten mit MKPS und eine Endokarditishäufigkeit von 0,0026% pro Jahr bei Patienten mit asymptomatischem MKP. Bei MKP und begleitender Mitralinsuffizienz betrug das Risiko einer infektiösen Endokarditis 0,0093 % / Jahr. *Marks et al.* [86] fanden bei einem Kollektiv von 456 Patienten in einer dem MKPS entsprechenden Subgruppe (Mitralsegelverdickung  $\geq 5$  mm) eine Endokarditisrate von 3,5 %, wohingegen in der Subgruppe mit asymptomatischem MKP keine Endokarditis beobachtet wurde ( $p \leq 0,02$ ). Auch *Nishimura et al.* [102, 103] nehmen bestimmte Risikofaktoren für eine Endokarditis an, so zum Beispiel männliches Geschlecht bei höherem Alter, das Vorhandensein redundanter Segel und ein systolisches Geräusch. In einer retrospektiven Studie fanden sie bei 45 % der Endokarditispatienten einen Mitralklappenprolaps, wohingegen in der altersentsprechenden Kontrollpopulation nur 7 % MKP-Träger vorkamen.

Die myxomatös degenerierte Mitralklappe beim MKP und vor allem beim MKPS scheint für eine Besiedlung durch Bakterien zu prädisponieren, so dass ein vier- bis achtfach gesteigertes Endokarditisrisiko beobachtet wurde [35]. Diese gesteigerte Endokarditishäufigkeit könnte zum einen durch Endothelläsionen und zum anderen durch Fibrin- und Thrombozytenvegetationen an den Mitralsegeln verursacht sein. Auch eine pathogenetische Verbindung zu einer das MKPS unter Umständen begleitenden Mitralinsuffizienz wird diskutiert [46, 84, 102, 103]

### ***Zerebrale Ischämien***

Zerebrale Ischämien, zu denen transitorisch ischämische Attacken (TIA), prolongierte reversible ischämische neurologische Defizite (PRIND) und apoplektische Insulte gehören, kommen beim MKP und vor allem bei MKPS gehäuft vor. Obschon der pathogenetische Zusammenhang zwischen MKP/MKPS und zerebralen Ischämien in der Literatur lange umstritten war, ist er mittlerweile jedoch durch zahlreiche Studien belegt worden [71]. *Barnett et al.* [7, 8]. zeigten in einer Studie, dass bei Patienten unter 45 Jahren, die wegen einer TIA oder zerebralen Ischämie hospitalisiert worden waren, 40 % einen Prolaps eines oder beider Mitralsegel (n=60; Nachweis mittels M-

Mode-Echo) aufwiesen (davon 30 % einen Mitralklappenprolaps als einzigen Risikofaktor). In einer Kontrollgruppe, die nach Alter und Geschlecht vergleichbar war, wurde jedoch nur in 6,8 % der Fälle ( $p \leq 0,001$ ) ein MKP nachgewiesen. Eine andere Studie zeigte bei 24 % der Patienten ( $n=66$ ) unter 50 Jahren, die bei unauffälligen Angiographiebefunden eine TIA oder zerebrale Ischämie erlitten hatten, einen Mitralklappenprolaps (2D-Echo) als einzigen Risikofaktor auf [8]. *Scharf et al.* [71, 131] fanden 1982 bei 28 % der Patienten  $\leq 45$  Jahre ( $n=47$ ) mit TIA oder zerebraler Ischämie einen Mitralklappenprolaps (Kontrollgruppe 8 %) [71].

Während die beim asymptomatischen MKP relativ selten auftretenden zerebralen Ischämien durch eine veränderte Hämodynamik und die intrakardiale Bildung von Thromben verursacht sind, scheinen beim MKPS, bei dem häufiger als beim asymptomatischen MKP zerebrale Ischämien auftreten, zusätzlich eine vermehrte Thrombozytenaktivierung und/oder eine gestörte Endothelfunktion vorzuliegen.

Die gesteigerte Thrombozytenaktivierung soll zum einen auf Endothelläsionen der redundanten Mitralsegel und zum anderen auf einer (primären) Endotheldysfunktion beruhen. Hierbei scheinen die abnorme Funktion von Blutplättchen, mit einer verstärkten Neigung zur Aggregation, eine Erhöhung des Plättchenfaktors 4 und eine verkürzte Plättchenüberlebenszeit von pathogenetischer Bedeutung zu sein [14, 15, 35, 36, 131, 162]. Da die thromboembolischen Komplikationen aufgrund gesteigerter Thrombozytenaktivierung beim MKPS für die Fragestellung dieser Arbeit von besonderer Bedeutung sind, wird auf Details der möglichen Pathomechanismen zerebraler Ischämien beim MKPS in einem gesonderten Kapitel ausführlich eingegangen ( $\rightarrow$  1.4).

Grundsätzlich handelt es sich bei einem Teil der zerebralen Ischämien bei MKPS um Embolien durch Thromben, die an den prolabierenden Mitralsegeln entstanden sind. *Pomerance et al.* [174] beschrieb 35 Fälle mit myxomatös veränderten Mitralsegeln, die eine nicht-entzündliche fibrinöse Endokarditis mit Veränderungen der Klappenfibrosa aufwiesen. Diese veränderten Mitralsegel können dem intrakardialen Druckdifferenzen unter Umständen nicht dauerhaft standhalten, was zu Endothelläsionen mit Offenlegung von subendotheliale Bindegewebsfasern führen kann. Durch diese Veränderungen der Mitralsegeloberfläche, die mit einer gesteigerten Adhäsion, Aggregation und damit Aktivierung von Thrombozyten einhergehen, könnte die Entstehung von Thromben und eine allgemeine Hyperreaktivität der Thrombozyten erklärt werden.

Andere Autoren [174] beschreiben die Entstehung von Thromben zwischen dem hinteren Mitralsegel (PML) und der Wand des linken Vorhofs, zwischen der Kammer zugewandten Seite des durch eine

fibrinöse Endokarditis veränderten Mitralsegels und der Wand des linken Ventrikels und den Chordae tendinae sowie beim Vorliegen einer Mitralregurgitation.

Manche Autoren [174] berichten vom echokardiographischen Nachweis von Thromben an den Mitralsegeln, wobei sich die Thromben an der dem Vorhof zugewandten Seite der Mitralsegel befinden und sich durch lokalisierte echodichtere Bereiche auszeichnen.

Auch *Barletta et al.* [6, 174] berichten über ein gehäuftes Vorkommen von besonders verdickten Mitralsegeln bei Patienten mit MKPS und zerebralen Ischämien im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.

Bei Patienten mit einem echokardiographisch nachgewiesenem Mitralklappenprolaps sind 32 % der zerebrovaskulären Ereignisse transient und 66 % permanent, 20 % der Mitralklappenprolaps-Patienten weisen rezidivierende Verläufe auf [102, 103].

Bei Patienten unter 45 Jahren mit **Transistorisch ischämischen Attacken (TIA)** findet man zu 40 % ein Mitralklappenprolaps-Syndrom, wohingegen in der Kontrollpopulation nur 6,8 % MKP-Träger vertreten sind [7, 8]. Insgesamt haben MKPS-Patienten ein etwa vierfach erhöhtes Risiko, ein thromboembolisch bedingtes zerebrovaskuläres Ereignis zu erleiden [174]. Man nimmt beim Vorliegen eines **Apoplex** bei jungen Patienten eine MKP/MKPS Häufigkeit von 2 bis 40 % an, wobei der Ausschluss anderer Risikofaktoren teilweise recht schwer ist und nicht allein vom Vorliegen eines MKP per se auf die ursächliche Bedeutung dieses Befundes geschlossen werden darf [174].

Die Häufigkeit zerebraler embolischer Ereignisse scheint bei Patienten mit MKP und besonders bei Patienten mit MKPS erhöht zu sein, sie ist jedoch mit schätzungsweise 1/6000 MKPS-Patienten pro Jahr sehr gering [102, 103]. Bei Patienten mit diskretem MKP scheint das Risiko zerebraler Ischämien kaum erhöht zu sein, während Patienten mit MKPS ein erheblich höheres Risiko für das Auftreten zerebraler Ischämien aufweisen [47, 71, 102, 103, 174]. Das MKPS ist einer der häufigsten Risikofaktoren für zerebrale Ischämien junger Patienten ( $\leq 45$  Jahre), so dass eine Prophylaxe mit Acetylsalicylsäure und in Ausnahmefällen sogar eine Antikoagulation angeraten wird [35].

Selbstverständlich können jedoch auch Erkrankungen, die über das MKPS hinaus vorliegen, zu thromboembolischen Ereignissen führen, so zum Beispiel Vorhofflimmern, intrakardiale Thromben, infektiöse Endokarditiden und Herzanomalien [102, 103].

Alle diese Veränderungen sind definitionsgemäß in ihrer stärkeren Ausprägung wohl eher dem MKPS als dem MKP zuzuordnen, so dass man beim MKPS eine gegenüber dem MKP gesteigerte Thrombozytenaktivierung und damit Thromboembolie-Inzidenz erwartet werden darf.

Durch die konsequente Anwendung des MKPS-Begriffes kann die Einteilung in eine Low-Risk- und eine High-Risk-Patientengruppen hinsichtlich zerebraler Ischämien unterstrichen bzw. erleichtert werden [174].

### ***Retinale Gefäßverschlüsse***

Während bei älteren Menschen Netzhautgefäßverschlüsse durch lokale oder systemische Arteriosklerose bedingt sind, ist diese Ursache bei jungen Menschen meist nicht gegeben.

Eine mögliche Ursache eines retinalen Gefäßverschlusses junger Menschen stellt der echokardiographisch nachgewiesenen Mitralklappenprolaps dar. Bei Patienten mit Amaurosis fugax fanden *Schimkat, Horstkotte und Sundmacher* [134] retrospektiv in 28,2 % der Fälle einen Mitralklappenprolaps. In einer amerikanischen Studie wiesen 22 % der Patienten mit einem MKP ( $\leq$  45 Jahre) eine Amaurosis fugax auf, wohingegen in der Kontrollgruppe nur 1 % eine Amaurosis fugax aufwiesen [134]. Auch *van Rhee et al.* [120] weisen anhand des Falles einer 69-jährigen Frau, die einen bilateralen Verschluss der Retinalgefäße erlitten hatte, auf die Notwendigkeit zur eingehenden kardiologischen Untersuchung - einschließlich Echokardiographie - hin. Bei dieser Frau konnte außer einem MKP keine andere Ursache entdeckt werden, die für die Erklärung der Arterienverschlüsse hinreichend gewesen wäre.

Mitralklappenprolaps-Träger weisen oftmals vielfältige neuroophthalmologische Symptome auf, wie zum Beispiel Flimmerskotome, echte Skotome und Hemianopsien. Mit diesen Symptomen können Amaurosis fugax und irreversible retinale Gefäßverschlüsse (Zentralarterienverschlüsse, Arterienastverschlüsse, chorioidale Gefäßverschlüsse) als Komplikationen verbunden sein [134, 174].

Für den Verschluss arterieller Gefäße im Bereich der Netzhaut gibt es pathogenetische Modelle, wie zum Beispiel die Entstehung von Plättchen-Fibrin-Thromben an den myxomatös veränderten Mitralsegeln ( $\rightarrow$  1.4)..

MKPS-Patienten haben aufgrund ihrer erheblich verdickten, redundanten Mitralsegel und der damit verbundenen Thrombozytenaktivierung sowie einer zusätzlichen (primären) Thrombozytenaktivierung

ein gegenüber dem asymptomatischen MKP gesteigertes Risiko retinaler Gefäßverschlüsse [120, 134, 174].

### ***Herzrhythmusstörungen***

Insgesamt kommen Rhythmusstörungen beim MKPS deutlich häufiger als bei asymptomatischem MKP und als bei Normalpersonen vor [5, 11, 66, 105, 138], wobei *Savage et al.* [128, 129, 130] auf das eventuelle Vorliegen einer Subgruppe innerhalb des MKPS-Kollektives mit einer besonderen Häufung von Arrhythmien hinweisen, ohne dass es ihnen gelungen wäre, diese Patientengruppe genauer einzugrenzen.

Die Pathogenese der Rhythmusstörungen ist bislang ungeklärt und wahrscheinlich auch nicht einheitlich. So werden ursächlich u.a. die Mitralsegel als ektope Erregungszentren, die Existenz atrioventrikulärer Bypassbündel (u.a. bei WPW-Syndrom), die Irritation des Myokards durch verstärkten Zug der Chordae tendinae und ein vermehrter Sympathikotonus diskutiert [14, 15, 66, 169].

Entscheidende Bedeutung bei der Diagnose von Rhythmusstörungen bei MKPS kommt dem Langzeit-EKG zu, wohingegen die Ergometrie diesbezüglich nur beschränkte Aussagekraft hat und Arrhythmien häufig erst nach Ende der Belastung auftreten [169].

Unter den Herzrhythmusstörungen beim MKPS dominieren ventrikuläre Extrasystolen, gefolgt von supraventrikulären Extrasystolen [5]. Bradykarde Rhythmusstörungen sind selten. *Kafka* [66] untersuchte Prävalenz, therapeutische Beeinflussung und prognostische Bedeutung ventrikulärer Arrhythmien beim MKPS und fand bei 89 % dieser Patienten (n=82) ventrikuläre Extrasystolen und bei 40 % der Patienten mehr als 30 ventrikuläre Extrasystolen pro Stunde. Er konnte zudem nachweisen, dass bei positivem Auskultationsbefund ventrikuläre Extrasystolen signifikant häufiger sind.

Maligne ventrikuläre Rhythmusstörungen (anhaltende Kammertachykardien, Kammerflimmern) dürften in den meisten Fällen als Ursache eines plötzlichen Herztodes beim MKPS anzuschuldigen sein [105].

Ebenso wie beim MKP bereitet auch beim MKPS die Identifizierung einer besonders gefährdeten Arrhythmiegruppe bislang Schwierigkeiten, da eine Korrelation zwischen Arrhythmiecharakter und klinischen, elektrokardiographischen und echokardiographischen Befunden hinsichtlich der individuellen Prognose meist nicht gelingt [128, 129, 130, 138]. Möglicherweise können

spätsystolischer Prolaps, positiver Auskultationsbefund und Ergebnisse einer Langzeit-EKG-Untersuchung auf eine solche Gruppe hinweisen [4, 11, 66, 138].

### ***Plötzlicher Herztod***

Es muß mit einer Inzidenzrate von bis zu 0,5 % der MKPS-Patienten pro Jahr gerechnet werden, wobei Arrhythmien (Kammertachykardie, Kammerflimmern) eine entscheidene ursächliche Bedeutung haben [68].

Bei 1500 rechtsmedizinischen Obduktionen im Institut für Rechtsmedizin der Universität München fanden sich vier Fälle, bei denen ausschließlich ein MKPS alleinige Todesursache war [105], dennoch sollten die MKPS-Patienten mit dieser Tatsache nicht belastet werden [68, 105]. Auch andere Studien [19, 87, 102, 103] zeigten Herzrhythmusstörungen als Ursache eines plötzlichen Todes bei jüngeren MKPS-Patienten, da bei den autopsierten Patienten außer myxomatös verdickten Klappen und einer eventuellen Mitralregurgitation keine weiteren pathologisch-anatomischen Auffälligkeiten gefunden wurden.

Des weiteren konnte in diesen Studien mit 1,9 Todesfällen / 10.000 Patienten pro Jahr eine gering gesteigerte Häufigkeit des plötzlichen Herztodes bei den MKPS-Patienten gezeigt werden.

### ***Psychische und Psychiatrische Komplikationen***

In der Literatur wurde vielfach über eine Verbindung des MKPS mit psychiatrischen Erkrankungen spekuliert [3, 14, 15].

So fanden sich beispielsweise bei Patienten mit Angstneurosen bis zu 35 % MKP-Träger, wobei die Durchschnittshäufigkeit in insgesamt 17 Studien bei 18 % MKP-Träger lag. Eine überdurchschnittliche MKPS-Häufigkeit findet man auch bei Patienten mit bipolaren affektiven Störungen und Angststörungen. Aufgrund des unzureichenden Standards der MKPS-Diagnostik in den einzelnen Studien und der enormen Streubreite der Ergebnisse ist eine abschließende Beurteilung des Zusammenhanges zwischen MKPS und psychiatrischen Komplikationen derzeit nicht möglich.

Grundsätzlich bleibt fraglich, ob psychiatrische Auffälligkeiten nicht eher als Folge der MKPS-typischen Symptome und eines gesteigerten Sympathikotonus anzusehen sind und sich im Rahmen eines Circulus vitiosus mit der Zeit verstärken [169].

## **1.4 Hämostase und Thrombozytenfunktion**

### **1.4.1 Physiologie von Hämostase und Thrombozytenfunktion**

Die Hämostase wird durch hämodynamische und biochemische Mechanismen gesichert. Dabei wird das lädierte Gefäß durch Vasokonstriktion und durch die Bildung eines Thrombus verschlossen [142].

Die Hämostase stützt sich auf drei miteinander interagierenden Säulen :

- **plasmatisches Blutgerinnungssystem,**
- **Endothel und (peri-) vaskuläre Faktoren,**
- **Thrombozyten.**

Die Thrombusbildung setzt ein normales **plasmatisches Blutgerinnungssystem** (Intrinsic System, Extrinsic System) voraus, das über Zwischenschritte einer Gerinnungskaskade in die Bildung eines Fibringerinnsels einmündet.

Das **Endothel** spielt eine entscheidene Rolle bei der Interaktion zwischen Thrombozyten und Gefäßwand [82] und bei der Regulation von Normalzustand und Hämostase. Die Endothelzellen gewährleisten durch Freisetzung von gefäßrelaxierenden und plättchenhemmenden Substanzen wie EDRF/NO und Prostazyklin die Durchblutung lebenswichtiger Organe [83]. Bei normal funktionierendem Endothel lagern sich keine Thrombozyten an die Gefäßwand an, während es nach mechanischer Entfernung des Endothels (Endothelnudation) zu einer sofortigen Anlagerung von Thrombozyten kommt. Das Ausmaß der Thrombozytenablagerung hängt von der Tiefe und der Fläche der Endothelverletzung ab [82].

Als Ursache einer pathologischen Thrombozytenaktivierung wird neben einer rein mechanischen Schädigung des Endothels (Endothelnudation) auch eine Fehlfunktion (z.B. Enzymmangel) des Endothels diskutiert. So kommt der Beeinträchtigung der Endothelfunktion in der Pathophysiologie kardiovaskulärer Erkrankungen, beispielsweise bei der Arteriosklerose und der arteriellen Hypertonie, eine zentrale Rolle zu [83].

Einer eventuellen Aktivierung von Thrombozyten und der damit verbundenen Sekretion von Serotonin, ATP, ADP und Vasopressin kann das intakte Endothel entgegenwirken, indem es Prostaglandin I<sub>2</sub> und D<sub>2</sub>, ADP-inaktivierende Enzyme und EDRF (=NO) sezerniert bzw. aktiviert. So scheinen ADP und ATP aus den aktivierten Thrombozyten, die Bildung von *Stickstoffmonoxid* (NO, EDRF) in den Endothelzellen zu stimulieren, was wiederum (über die Bildung von zyklischem 3',5-Guanosinmonophosphat: cGMP) zu einer Gefäßrelaxation und einer Hemmung der Thrombozytenadhäsion und -aggregation führt [82]. Bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit konnte gezeigt werden, dass die Freisetzung und die Wirkung von EDRF/NO beeinträchtigt ist [83].

Das ebenfalls im Endothel synthetisierte *Prostazyklin* wirkt gemeinsam mit dem NO antiaggregatorisch auf die Thrombozyten [83], indem es als Antagonist des Thromboxan A<sub>2</sub> dessen vasokonstriktive und aggregationsfördernde Wirkung aufhebt.

Unter bestimmten Bedingungen ist durch diese Mechanismen des Endothels die Zurück-verwandlung der aktivierten in nicht-aktivierte Thrombozyten möglich.

Aber auch vasokonstriktorische Substanzen werden vom Endothel gebildet, allen voran das *Endothelin*, dem wohl potentesten Vasokonstriktor im Kreislauf. Dieses Endothelin wird durch die aus den Thrombozyten freigesetzten Substanzen, insbesondere durch TGF-β, und durch das bei der Blutgerinnung entstehende Thrombin aus der Gefäßwand freigesetzt [82].

Das Endothel enthält im Normalzustand ADP-inaktivierende Enzyme (Ekto-Nukleotidasen), die unter bestimmten Umständen in ihrer Aktivität gehemmt sein können und dadurch zur Entstehung von Atheromen und über eine erhöhte ADP-Konzentration auch zu einer gesteigerten Aktivierung von Thrombozyten führen können. Auch Erythrozyten und der Scherstreß von Plättchen an Atheromen können durch einen erhöhten ADP-Spiegel im Plasma zu einer Aktivierung der Thrombozyten führen [135].

Diese **(peri-) vaskulären Faktoren** der Hämostase ermöglichen eine Vasokonstriktion, welche zum einen neural und zum anderen durch vasoaktive Amine (Serotonin, Adrenalin), die zum Teil von den aktivierten Plättchen freigesetzt werden, reguliert wird [142].

Die **Thrombozyten** (Ø 1-4 µm; 150.000-400.000/µl Blut) nehmen bei der Blutstillung eine Schlüsselstellung ein, weil sie in dreifacher Hinsicht funktionell aktiv sind :

- Bildung des Plättchenthrombus
- Freisetzung des Plättchenfaktor 4 (PF 4) (→ Intrinsische System)
- Freisetzung des vasoaktiven Serotonins

## 1.4.2 Spezielle Aspekte der Thrombozytenfunktion

Es gibt verschiedene Funktionszustände der Thrombozyten, die durch bestimmte innere und äußere Einflüsse moduliert und gesteuert werden, wobei die Thrombozyten entweder ruhend bzw. nicht-aktiviert oder aktiviert sind.

Im Blut zirkulieren im Normalzustand **nicht-aktivierte Thrombozyten**, die Scheibenform haben und bestimmte Proteine auf ihrer Oberfläche tragen [82, 93,149].

Im Inneren der Thrombozyten findet man folgende vier Arten von Granula [101]:

- $\alpha$ -Granula (85 %),
- elektronendichte-Granula (dense bodies) (10 %),
- Lysosomen,
- Peroxisomen.

Die  $\alpha$ -Granula enthält folgende spezifischen Proteine: Platelet derived growth factor (PDGF), Fibrinogen, Faktor VIII/von-Willebrand-Faktor (vWF), Faktor V, Fibronectin,  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG) und Plättchenfaktor 4 (PF 4) [135]. Die elektronendichte Granula enthält Adenosintriphosphat (ATP), Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Kalzium-Ionen. In der lysosomalen Granula sind saure Hydrolasen gespeichert [135].

Über ein mit der Thrombozytenoberfläche verbundenes Membransystem (SCS, surface connected system) werden die Inhaltsstoffe aller Granula nach einer Aktivierung des Thrombozyten sezerniert [135]. Durch Sekretion dieser Granula kann die Interaktion zwischen Thrombozyten untereinander und zwischen Thrombozyten und Umgebung (Blut, Endothel) beeinflusst werden [101].

Außerdem dient das SCS als Membranreservoir, das den Formwandel des Thrombozyten (visköse Metamorphose), welcher mit der Ausbildung von Pseudopodien einhergeht, ermöglicht. Bei diesem Formwandel deformiert sich das Mikrotubuli-Band, das den nicht-aktivierten Thrombozyten ungefähr zehnmal umrundet und für die diskoide Form des Thrombozyten verantwortlich ist [135].

Bei Kontakt mit bestimmten **Aktivatoren** (z.B.: HAF: Hämostase aktivierender Faktor), die nach einer Gefäßverletzung freigesetzt werden, kommt es zur raschen Umwandlung der nicht-aktivierten Thrombozyten in aktivierte Thrombozyten [135].

Bei der Thrombozytenaktivierung nach Freisetzung bestimmter Aktivatoren oder nach dem Starten der Gerinnungskaskade können 6 verschiedene Phasen auf dem Weg zum endgültigen Plättchenthrombus unterschieden werden [modifiziert nach 135] :

### **Phasen der Thrombozytenaktivierung**

- 1) Adhäsion
- 2) Formwandel (visköse Metamorphose)
- 3) Sekretion
- 4) reversible Aggregation
- 5) irreversible Aggregation
- 6) Retraktion

### **1) Adhäsion**

Zu Beginn der Thrombozytenaktivierung kommt es zur Adhäsion von Thrombozyten an das geschädigte Endothel/Subendothel. Hierbei bindet Kollagen an das Glykoprotein Ia und der vWF bindet an das Glykoprotein Ib. Dieser Rezeptor-Ligand-Komplex bindet seinerseits über Fibronectin an das Thrombospondin des Subendothels und sorgt damit für eine Thrombozyten-“Verankerung“ am Ort der Endothelläsion.

Die Thrombozyten haften an durch die Verletzung freigelegten Gefäßwandstrukturen, wie zum Beispiel Kollagenfasern, Basalmembran und verletzten Endothelzellen [135].

### **2) Formwandel (shape change, visköse Metamorphose)**

Die Thrombozyten verlieren nun, unter anderem durch die Aktivierung der membran-ständigen Phospholipase C (PLC), die über Zwischenschritte zu einer Aktivierung von Myosin- und Aktinelementen im Thrombozyten führt, ihre diskoide Form und bilden Pseudopodien aus.

### **3) Sekretion**

Alle Plättchen-Sekretionsprodukte haben grundsätzlich verstärkende Wirkung auf die Plättchenaktivierung, wobei die Inhaltsstoffe der  $\alpha$ -Granula in erster Linie die An-heftung der Thrombozyten an das Subendothel und die Inhaltsstoffe der elektronen-dichten Granula die Thrombozytenaggregation fördern.

Bei dieser Aktivierung von Thrombozyten werden unter anderem folgende Substanzen freigesetzt, die zu Vasokonstriktion und Thrombusentstehung beitragen [82]:

- Thromboxan A<sub>2</sub>
- Serotonin
- Adenosin-Diphosphat (ADP) und Adenosin-Triphosphat (ATP)
- platelet-activating factor (PAF)
- transforming growth factor beta (TGF-β)
- platelet derived growth factor (PDGF)

Diese Substanzen (Aktivatoren) wirken über bestimmte Rezeptoren der Thrombozyten-membran, die zwischen Thrombozyteninnerem und -äußerem vermitteln. Zu diesen Rezeptoren gehören vor allem der Thromboxan-A<sub>2</sub>-Rezeptor, der Serotonin-Rezeptor, der ADP-Rezeptor, der PAF-Rezeptor und die Glykoproteinrezeptoren Ia, Ib, IIb/IIIa und V [135]. Diese Glykoproteine sind auf molekularer Ebene essentiell an der Zell-kommunikation beteiligt und vermitteln als „Cytoadhäsine“ über Adhäsionsvorgänge die Interaktion mit anderen Zellen und bestimmten Substraten (Fibrinogen, vWF). Glykoprotein Ia bindet Kollagen, Glykoprotein Ib bindet den vWF (Faktor VIII), Glykoprotein V bindet Thrombin und Glykoprotein IIb/IIIa bindet Fibrinogen. Der Glykoproteinkomplex IIb/IIIa steuert den Thrombozyten-Funktionskreis „Aggregation“ und Ib den Funktionskreis „Adhäsion“ [147]. Die defizitäre Expression dieser Thrombozyten-membranproteine führt daher zu hämorrhagischen Diasthesen, so zum Beispiel beim Bernard-Soulier-Syndrom (Ib) und bei der Glanzmann´schen Thrombasthenie (IIb/IIIa) [147].

#### **4) Reversible Aggregation**

ADP und Thromboxan A<sub>2</sub> fördern die Bildung reversibler Thrombozytenaggregate. Außerdem bilden sich Fibrinogen-Brücken zwischen den Glykoproteinrezeptoren IIb/IIIa verschiedener Thrombozyten.

#### **5) Irreversible Aggregation**

Die reversiblen Aggregate werden im Zusammenspiel mit plasmatischen Koagulations-faktoren und in Abhängigkeit des initialen Reizes der Endothelschädigung in irreversible Aggregate überführt. Hierbei spielt die Höhe des Thrombinspiegels eine entscheidende Rolle, da Thrombin für die Entstehung irreversibler Plättchen-Fibrin-Aggregate verantwortlich ist.

## 6) Retraktion

Die Thrombozyten in den irreversiblen Aggregaten ziehen sich schließlich zusammen und verstärken damit den Plättchen-Fibrin-Pfropf.

Die aktivierten Thrombozyten tragen nach dem Formwandel andere **Thrombozyten-membranproteine** (Glykoproteine bzw. Glykoproteinrezeptoren) auf ihrer Membran als die nicht-aktivierten Thrombozyten.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchflußzytometrisch mit monoklonalen Antikörper markierten Thrombozytenmembranproteine (→ Abb. 1.11) sind das lysosomale Protein mit der internationalen Antigenklassifikation **CD 63** (monoklonaler Antikörper AK 2.28), das  $\alpha$ -Granula-Membran-Protein mit der internationalen Antigenklassifikation **CD 62** (Antikörper AK 2.17), das auch als P-selectin, GMP-140 (Granularmembranprotein) oder PADGEM (platelet-activation-dependent-granule-external-membran) bezeichnet wird, und Teile des **Thrombospondinmoleküls (TSP)** (Antikörper AK P 10), wobei diese Membranproteine von ruhenden Plättchen nicht oder nur in geringem Ausmaß exprimiert werden.

Bei einer Aktivierung der Thrombozyten kommt es jedoch zu einer verstärkten Expression dieser Antigene, so dass durch die Anzahl der Antigen-Antikörper-Komplexe und der daraus resultierenden Fluoreszenzintensität, welche durchflußzytometrisch meßbar ist nach entsprechender Berechnung auf den Aktivitätsgrad der Thrombozyten geschlossen werden kann.

*Tschöpe* [149] konnte durch submaximale Thrombinstimulation (0.2 U/ml) in vitro die Zunahme an Fluoreszenz-positiven (AK 2.28/CD 63) Thrombozyten und die Abnahme der ruhenden, Fluoreszenz-negativen (AK 2.28/CD 63) Thrombozyten nachweisen, wobei diese Veränderungen der Antigene der Thrombozytenmembran, die der Polymerisierung des Zytoskeletts der Thrombozyten unmittelbar folgen, nach 30 Sekunden nahezu maximal sind.

Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, die Thrombozyten entweder als nicht-aktiviert (Marker-negativ) oder als aktiviert (Marker-positiv) zu klassifizieren und somit deren jeweilige prozentuale Verteilung in einer Thrombozytenpopulation anzugeben.

Eine Vielzahl von Studien und Untersuchungen mit monoklonalen Antikörpern, die gegen Epitope der Thrombozyten gerichtet sind, belegen die Aussagekraft der für die vorliegenden Arbeit verwendeten Methode [60, 61, 81, 90, 99, 100, 126, 145, 147-158, 164], wobei im Folgenden für jeden der drei verwendeten Antikörper einige Studien exemplarisch vorgestellt werden sollen.

Welche Antikörper im Zusammenspiel mit welchen Antigenen bzw. Epitopen die beste Aussagekraft hinsichtlich der Thrombozytenfunktion bzw. Thrombozytenaktivierung in der jeweiligen Krankheitssituation (Antikörperprofil der Thrombozytenaktivierung) aufweisen, werden weitere Studien zeigen müssen (→ 4. Diskussion).

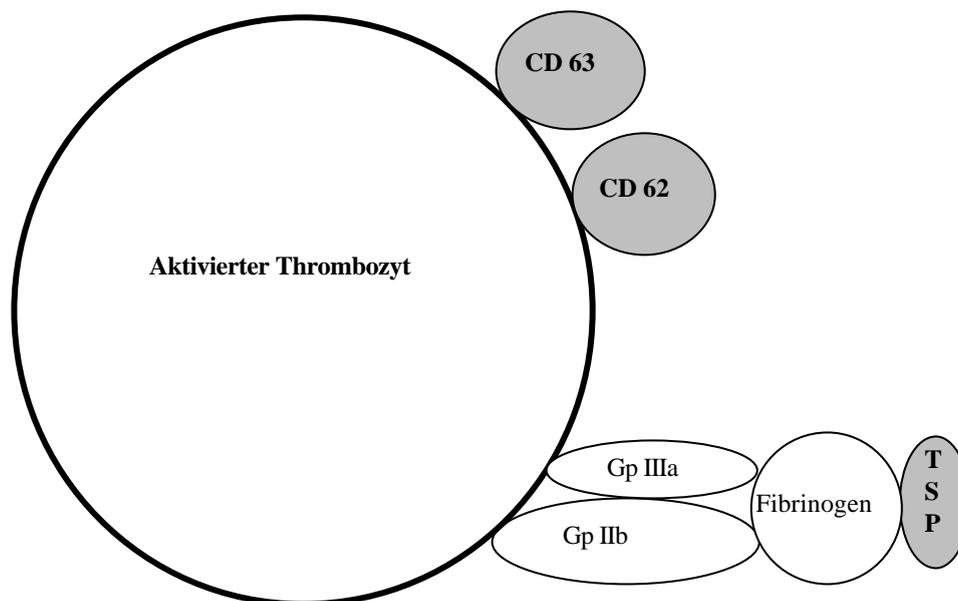


Abbildung 1.11: Schema der Oberflächenproteine eines aktivierten Thrombozyten

### Antikörper AK 2.28 (CD 63)

Der monoklonale Antikörper 2.28 (AK 2.28) richtet sich gegen Anteile eines lysosomalen Proteins mit der internationalen Antigenklassifikation CD 63. Dieses CD 63-Protein ist ein 53-Kilodalton Protein, welches aus 237 Aminosäuren besteht und vier transmembranöse Regionen besitzt.

Hinsichtlich weiterer Einzelheiten über den bio-chemischen Aufbau und die Orientierung des CD 63-Proteins in der lysosomalen Membran sei auf die detaillierten Beschreibungen von *Metzlaart et al.* [91, 92] verwiesen.

CD 63, das sich auch in der elektronendichten Granula der Thrombozyten befindet [101], scheint zudem mit dem Melanom-assoziiertem Antigen ME 491 [91, 92], einem neuroglandulären Antigen und Granulophysin, einem Protein, das sich ebenfalls in der elektronendichten Granula befindet, identisch zu sein.

CD 63 kann nach erfolgter Sekretion der Lysosomen, einem Teilschritt der Thrombozytenaktivierung, stets auf der Plasmamembran nachgewiesen werden.

Obschon die exakte gerinnungsphysiologische Funktion von CD 63 bislang nicht vollständig aufgeklärt wurde [91, 92], wird jedoch angenommen, dass CD 63 eine wichtige Rolle bei der Adhäsion der Thrombozyten an Gefäßwanddefekte und bei der Bildung von Thrombozytenaggregaten spielt [116] .

*Niewenhuis et al.* [99, 100] zeigten, dass das mittels AK 2.28 auf Thrombozyten nach-gewiesene CD 63 ein nützliches Instrument zum Nachweis der Thrombozyten-aktivierung sowohl in vitro als auch in vivo (z.B. nach einer Bypass-Operation) ist.

Eine Vielzahl anderer Studien zeigten ebenfalls eine gesteigerte Thrombozyten-aktivierung bei bestimmten Kollektiven, so z.B. bei Patienten mit IDDM-Diabetes [149-151], Patienten mit myeloproliferativen Erkrankungen (Chronisch myeloischer Leukämie (CML) und Essentieller Thrombozythämie (ET)) [164], beim Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine [93, 123] und bei Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose [92].

In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass eine durch den Nachweis der CD 63-Expression festgestellte vorbestehende Thrombozytenaktivierung vor einer PTCA mit einem eindeutig gesteigerten Risiko akut-ischämischer Ereignisse während bzw. nach einer PTCA einhergeht [70, 150], so dass das Ausmaß der CD 63-Expression als Prädiktor möglicher thromboembolischer Komplikationen im Rahmen einer PTCA angesehen werden kann (→ 4. Diskussion).

### **Antikörper Ak 2.17 (CD 62, GMP-140, P-selectin, PADGEM)**

Der monoklonale Antikörper 2.17 (AK 2.17) bindet sich an Epitope eines  $\alpha$ -Granula-Membran-Proteins mit der internationalen Antigenklassifikation CD 62. Dieses 140-Kilodalton Protein, welches auch als P-selectin, GMP-140 (Granularmembranprotein) oder PADGEM (platelet-activation-dependent-granule-external-membran) bezeichnet wird, ist als internaler Membranbestandteil der  $\alpha$ -Granula nach Plättchenaktivierung mit der Oberflächenmembran fusioniert. CD 62 setzt sich aus 789 Aminosäuren zusammen und ragt mit seinem größten Anteil aus der Zellmembran heraus, besitzt aber zusätzlich auch eine transmembranöse und eine zytoplasmatische Domäne [10, 22].

Man findet CD 62 (P-selectin) aber nicht nur in der  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten, sondern auch in den „Weibel-Palade-Bodies“ der Endothelzellen. Diese „Weibel-Palade-Bodies“ sind Organellen der Endothelzelle, die den für die normale Hämostase essentiellen von-Willebrand-Faktor (vWF) speichern [22]. Bei der Notwendigkeit zur Blutstillung erscheint P-selectin innerhalb von 1-5 Minuten auf der Oberfläche der Endothelzelle, während gleichzeitig der vWF durch bestimmte Stimulatoren (Thrombin, Histamin, Komplement,  $\text{Ca}^{2+}$ ) freigesetzt wird. Nach 20-30 Minuten wird P-selectin dann wieder ins Zytosol verbracht.

Ähnliche Vorgänge finden sich auch bei den Thrombozyten, wobei es bei den Thrombozyten im Gegensatz zum Endothel zu keiner Wiederaufnahme des CD 62 (P-selectin) ins Zytosol kommt [22]. Bei den Thrombozyten kann jedoch anstattdessen das sogenannte „Shedding“ beobachtet werden, ein Phänomen, das sich durch die Anlagerung von Leukozyten an die aktivierten, stark CD62-positiven Thrombozyten auszeichnet, wobei dieses Phänomen vornehmlich bei chronischen Aktivierungsreizen auftritt und folglich eine quantitative Analyse mittels monoklonaler Antikörper, die gegen das CD62-Epitop gerichtet sind, verfälschen kann ( $\rightarrow$  4. Diskussion) [115, 147-152].

Die gerinnungsphysiologische Bedeutung von CD 62 liegt vermutlich in der Herstellung eines Zell-Zell-Kontaktes zwischen aktivierten Thrombozyten und Leukozyten [22]. So konnte bei Patienten mit Instabiler Angina pectoris eine im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris gesteigerte Bildung von Thrombozyten-Leukozyten-Komplexen nachgewiesen werden [116]. P-selectin

(CD62P) gehört neben E-selectin (CD62E) und L-selectin (CD62L) zur Familie der Selectine, einer Gruppe von Adhäsionsmolekülen, die gemeinsame Strukturmerkmale aber eine unterschiedliche Verteilung im Gewebe aufweisen.

In Studien konnte eine strukturelle Ähnlichkeit des P-selectin mit dem E-selectin (ELAM, CD62E), einem Endothelzellmolekül, das mit der Adhäsion von Leukozyten zusammenhängt und die Wichtigkeit dieses Moleküls im frühen Stadium einer Entzündung erklärt, nachgewiesen werden [22, 116].

Welche physiologische Funktionen die P-selectin-vermittelte Anlagerung von neutrophilen Entzündungszellen an den entstehenden Plättchenthrombus am Ort eines Gefäßwanddefektes bzw. -plaques hat, ist allerdings bislang nicht vollständig geklärt [116]. In Zellkulturen konnte die Expression von P-selectin auf der Oberflächenmembran von Endothelzellen durch Entzündungsmediatoren, wie z.B. Thrombin, Lipopolysaccharide, Tumor-Nekrose-Faktor (TNF), Sauerstoffradikale, Komplementfaktoren und Histamin induziert werden [10].

Unter Zuhilfenahme des AK 2.17 konnte eine signifikant gesteigerte Thrombozyten-aktivierung bei Typ-1-Diabetikern mit thromboembolischen Komplikationen gezeigt werden [149], wobei das CD 62 / GMP-140 als Zielepitop des AK 2.17 dabei von besonderem Interesse ist, da es im Rahmen der Pathogenese von Gefäßveränderungen bzw. Gefäßläsionen, die durch molekulare Interaktion von Neutrophilen mit den aktivierten Thrombozyten und dem Endothel verursacht werden, eine entscheidene Rolle spielen soll [115, 116, 149, 156].

*Metzelaar et al.* [93] zeigten eine dosisabhängige Expression von CD 63 und CD 62 bei Stimulation mit Thrombin, wobei die maximale Expression von CD 62 etwa doppelt so groß ist wie die von CD 63. Dieses Ergebnis erklären sie mit der Beobachtung, dass mittels spezieller Markierungsversuche bei CD 62 maximal etwa 20.000 und bei CD 63 maximal etwa 11.000 Bindungsstellen pro Plättchen nachgewiesen werden konnten.

Klinische Studien zeigten eine erhöhte Expression von CD 62 bei einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit ARDS, Patienten während Anwendung der Herzlungenmaschine bei Operationen [93, 122] und bei Patienten während PTCA [20, 57, 70, 151]. Außerdem finden sich in der Literatur Hinweise, dass CD 62 bei Polycythaemia Vera (PV) [164] und bei Patienten mit ARDS [150] vermehrt exprimiert wird.

CD 62 scheint vor allem ein verlässlicher und schneller Marker für die Plättchenaktivierung nach schwerem Gefäßtrauma zu sein, wie durch Tierversuche an Ratten von *Chignier et al.* [20] nachgewiesen werden konnte (→ 4. Diskussion.)

Es konnte zudem gezeigt werden, dass eine starke Expression von P-selectin bei Endothelien anzutreffen ist, die eine erhebliche artherosklerotische Plaquebildung (fibrös-lipidreich, komplex) aufweisen, während bei geringgradiger (fibröser) bzw. fehlender artherosklerotischer Plaquebildung eine dementsprechend geringere bzw. fehlende Expression von P-selectin beobachtet wurde [10].

### **Antikörper AK P 10 (Thrombospondin)**

Der monoklonale Antikörper P 10 (AK P 10) richtet sich gegen ein Epitop des Thrombospondinmoleküls. Thrombospondin (TSP) ist ein 450 Kilodalton  $\alpha$ -Granula-Glykoprotein aus der Gruppe der adhäsiven Makromoleküle, das nach Aktivierung sezerniert und in einer Calcium-abhängigen Reaktion über seinen Rezeptor Glykoprotein-(GP)-IV (CD 36) an die Plättchenmembran zurückgebunden wird. Es stabilisiert (Abb.) die Brückenbildung zwischen GP IIb/IIIa und Fibrinogen und damit den Zell-Zell-Kontakt und unterstützt die Konversion reversibler Mikroaggregate in irreversible Makroaggregate in der zweiten sekretionsabhängigen Phase der Aggregation [78]. Durch die Interaktion von Thrombospondin mit Heparin, Fibronectin, Fibrinogen, Plasminogen, bestimmten Glykoproteinen, Laminin und Kollagen wird die Thrombozytenfunktion weiter modifiziert [78].

Thrombospondin, welches auch in den Endothelzellen vorhanden ist, führt des weiteren zu einer Verstärkung der mitogenen Wirkung des von den Thrombozyten freigesetzten Platelet derived Growth Factor (PDGF) und anderer Wachstumsfaktoren, die für die Regeneration von verletztem Endothel von erheblicher Bedeutung sind.

In der Literatur wurde eine erhöhte Expression von Thrombospondin bei Patienten mit länger bestehendem Diabetes mellitus (IDDM) ohne diabetische Mikroangiopathie und bei Inselzell-Antikörper-positiven Verwandten von Patienten mit Diabetes mellitus (2,8-fache Erhöhung gegenüber der Norm) [157] gezeigt, wobei Thrombospondin vermutlich vor allem eine andauernde Thrombozytenaktivierung anzeigt [115].

Aber auch im Rahmen akut-ischämischer Ereignisse nach PTCA und bei Patienten mit Multiorganversagen (MOF) im Rahmen eines septischen Geschehens konnte eine signifikante Vermehrung der Thrombospondin-Expression gezeigt werden [39, 40, 70, 150].

### **Therapeutischer Einsatz monoklonale Antikörper**

Seit einigen Jahren werden monoklonale Antikörper, die gegen bestimmte Epitope der Thrombozytenmembran gerichtet sind, auch therapeutisch eingesetzt, um eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung herabzusetzen und thromboembolische Ereignisse zu verhindern.

*Coller et al.* [21] wiesen bereits 1986 den hervorragenden antithrombotischen Effekt von Antikörpern, die gegen den Glykoproteinrezeptor IIb/IIIa der Thrombozyten gerichtet waren, nach. Ein entsprechender Antikörper zur Hemmung der Plättchenaggregation, der sich gegen die Plättchenepitope GP IIb/IIIa richtet, steht als ABCIXIMAB bzw. Reopro<sup>®</sup> nunmehr zur Verfügung und zeigte in Studien bei Hochrisikopatienten während PTCA bzw. Artherotomie gute Ergebnisse [41]. Auch bei den monoklonalen Antikörpern, die dieser Untersuchung zugrunde liegen, könnte man sich prinzipiell neben der diagnostischen Nutzung auch eine therapeutische Anwendung zur Hemmung bzw. Verminderung der Thrombozytenaggregation vorstellen, wobei insbesondere der Eingriff in die Aktivierungs-kaskade der Thrombozytenaktivierung (z.B. während PTCA) von therapeutischem Nutzen sein könnte (→ 4. Diskussion).

## 1.5 Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die vergleichende durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung mittels monoklonaler Antikörper bei Patienten mit Mitralklappenprolaps (MKP) und Patienten mit Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS).

Dabei interessiert besonders inwieweit sich Patienten mit MKPS (n= 16), die durch verdickte, myxomatös veränderte Mitralsegel ( $\geq 5$  mm), sowie MKPS-typische Symptome und Komplikationen charakterisiert sind, hinsichtlich ihrer Thrombozytenaktivierung von MKP-Patienten (n= 19) und Patienten eines Normalkollektivs (n= 50) unterscheiden.

In der Literatur finden sich Hinweise auf eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei MKPS-Patienten [36, 51, 131-133, 144, 162], die auf einer (primären) Thrombozyten-aktivierung bzw. -hyperaggreagabilität und/oder einer (primären) Endotheldysfunktion beruhen soll und die zu einem erhöhten Thromboembolierisiko bei den MKPS-Patienten führen soll.

Aktivierte Thrombozyten führen unter bestimmten Bedingungen zu einem vermehrten Risiko thromboembolischer Komplikationen, so dass die Identifizierung von Patienten mit aktivierten Thrombozyten wichtige diagnostische, prognostische und therapeutische Hinweise geben kann.

Die verwendete Methode der Durchflußzytometrie ( $\rightarrow$  2.2) kann dem Kliniker in diagnostischer, prognostischer und therapeutischer Hinsicht bei Patienten mit MKP und MKPS hilfreich sein, z.B. zur besseren Differenzierung zwischen Patienten mit niedrigem Komplikationsrisiko (MKP) und Patienten mit zum Teil erheblich gesteigertem Komplikationsrisiko (MKPS).

Die durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenfunktion weist bei hoher Spezifität und hoher Sensitivität der Methode zudem hinsichtlich der Charakterisierung von

Thrombozytensubpopulationen und hinsichtlich ihrer Anwendung in der klinischen Routine Vorteile gegenüber anderen Verfahren der Thrombozytenfunktionsanalyse auf.

Die eigenen Ergebnisse werden anhand der vorliegenden Literatur diskutiert.

# ***2. Material und Methoden***

## ***2.1 Material***

### **2.1.1 Bestimmung von Aktivierungsmarkern auf Thrombozyten im Durchflußzytometer mittels monoklonaler Antikörper gemäß dem Düsseldorf-III-Assay (Version 2.0) [Tschöpe 5]**

#### **2.1.2 Testmaterial**

- Antikoaguliertes Vollblut
- Entnahmemedium

#### **2.1.3 Erworbene Reagenzien**

- Formaldehydlösung (37 % säurefrei), Nr. 3999,  
*Fa. Merck Darmstadt, BRD*
- Rabbit-Serum, Nr. R-4505,  
*Fa. Sigma Chemie, Deisenhofen, BRD*
- FACSTFlow, Nr. 342003, (Sheath-Fluid)  
*Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD*
- CALIBRITE Beads, Nr. 349502, Beads zur Einstellung der Fluoreszenzkomensation,  
Sensitivität und Justierung: *Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD*
- QUANTITATIVE FLUORESCHEIN MICROBEAD STANDARDS (QFMS),  
Beads zur quantitativen Fluoreszenzintensitätsbestimmung; *Fa. Becton Dickinson, Heidelberg*

QFMS Kit low level, Nr. 85824

QFMS Kit high level, Nr. 85825

## 2.1.4 Antikörper

- **MsIgG**, Nr. 6602398, *Fa. Coulter Immunologie, Hisleah, Florida, USA*
- **2.28 , GP 53 = CD 63**, *Arbeitsgruppe K. Nieuwenhuis et al., Utrecht, Niederlande*  
(alternativ: CD 63 , Nr. 0768, *Fa. Dianova, Hamburg, BRD*)
- **2.17, GMP 140 = CD 62**, *Arbeitsgruppe K. Nieuwenhuis et al., Utrecht, Niederlande*  
(alternativ: CD 62 , Nr. 0767, *Fa. Dianova, Hamburg, BRD*)
- **P 10 , Anti-Thrombospondin**, Nr. 0367, *Fa. Dianova, Hamburg, BRD*
- **Anti-Mouse IgG F(ab)<sub>2</sub>-FITC**, Nr. F-2883, *Fa. Sigma-Chemie, Deisenhofen, BRD*  
(1 : 16 mit PBS verdünnt)

## 2.1.5 Selbst hergestellte Reagenzien

- **Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) :**

- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>      1.084 g, Fa. Merck, Nr. 4873

- Di-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>   4.510 g, Fa. Merck, Nr. 6580

- NaCl            4.510 g, Fa. Merck, Nr. 6404

ad 1 l mit Aqua bidest auffüllen, pH 7.2; Lagerung im Kühlschrank mehrere Wochen

- **Waschlösung :**

- Tri-Natriumcitrat-Dihydrat, Nr. 6448, *Fa. Merck, Darmstadt, BRD*

3,8 % in PBS, pH 7,2; Lagerung im Kühlschrank mehrere Wochen

- **Entnahmemedium**

- Entnahmemedium für Plättchenfaktor 4 (PF 4), *Fa. Behring, Liederbach, BRD*

alternativ :

1,3 ml Na-Citratlösung, 3,8 % = 0,25 M, Nr. 9361, *Fa. Merck, Darmstadt, BRD*

1,1 ml PBS

25 µl Aspisol, 1 mg/ml = 5,5 mM, aus Trockensubstanz, *Fa. Bayer, Leverkusen, BRD*

75 µl Prostaglandin E1, 1 mM, Nr. P-5515, *Fa. Sigma, Deisenhofen, BRD*

-----

2,5 ml Entnahmemedium

## **2.1.6 Einwegartikel**

- Neutral Tube, 10 ml Röhren aus Polystyren, Nr. 62.492, *Fa. Sarstedt, Nümbrecht, BRD*
- Stopfen für Neutral Tube, Nr. 65.793, *Fa. Sarstedt, Nümbrecht, BRD*
- Röhren für FACScan, Polystyrenreagenzglas mit Rundboden, Falcon Nr. 2052, *Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD*
- Pipettenspitzen weiß, gelb, blau, *Fa. Eppendorf, BRD*
- Spritze (5 ml)
- Kanüle (Ø 1 mm/ 1G)

## **2.1.7 Geräte**

- Laborzentrifuge, z.B. Labofuge M, *Fa. Heraeus, Osterode, BRD*
- Pipetten à 10 µl, 50 µl, 200 µl, 100-1000 µl, z.B. *Fa. Eppendorf, BRD*
- Zellzählgerät, geeicht auf Thrombozyten, z.B. Coulter Counter,

*Fa. Coulter Electronics Limited, Harpenden, Hertfordshire, England, Europa-Niederlassung*

- Durchflußzytometer, z.B. FACScan mit HP-Rechner, Software Lysis II Version 1.1,

*Fa. Becton Dickinson, Heidelberg, BRD*

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenfunktion**

Die Durchflußzytometrie ist eine Methode zur Analyse von Einzelzellen in Suspension auf der Grundlage von Fluoreszenz- und Streulichteigenschaften. Durch die breite Palette an Fluoreszenzfarbstoffen und monoklonalen Antikörpern ist die Durchflußzytometrie ein einzigartiges Instrument zur eingehenden Zelltypisierung.

Die Kombination der Durchflußzytometrie mit der Immunfluoreszenzmarkierung von antigenen Epitopen mit monoklonalen Antikörpern stellt ein diagnostisches Verfahren hoher Sensitivität und Spezifität für die Differenzierung von Leukozyten dar [Tschöpe1] und kann entsprechend auch bei Thrombozyten angewendet werden.

Bei der Durchflußzytometrie werden die Zielzellen hydrodynamisch so fokussiert, daß sie dann seriell, d.h. Zelle für Zelle, einen Laserstrahl mit festgelegter Wellenlänge (meist  $\lambda=488$  nm) passieren [Tschöpe (1)]. Trifft also ein Laserstrahl auf eine Zelle, so kommt es zur Streuung des Lichtes. Diese Streuung verläuft zum einen abhängig von der Größe der Zelle in Vorwärtsrichtung (FSC) und zum anderen in Abhängigkeit von der Zell-Granularität im rechten Winkel zur Flußrichtung (Seitwärtsstreuung SSC). Aus dem Verhältnis beider Streuungsmöglichkeiten entstehen typische *zweidimensionale Kennfelder*, die Aussagen über die einzelnen Zellpopulationen der Meßprobe erlauben.

Durch Markierung der Zellen mit Fluorochrom-Farbstoffen kann man durch Laserlicht die Emission von Fluoreszenzlichtimpulsen erreichen. Senden die Fluorochrom-Farbstoffe bei Laserbestrahlung unterschiedliche Emissionsspektren aus, so ist eine weitergehende Charakterisierung der Zellpopulationen möglich.

Eine Photomultiplermatrix zeichnet alle optischen Signale, die von jeder einzelnen bestrahlten Zelle ausgehen, auf, wobei sie durch den vorwärtsgerichteten Lichtimpuls der jeweiligen Zelle getriggert ist.

Je nach Konzeption des Durchflußzytometers können bis zu 5 Eigenschaften (2 Lichtstreuungen und 3 Fluoreszenzen) einer einzelnen Zelle gemessen werden. Durch die sogenannte 5-Parameter *LIST-MODE* Datenaufnahme werden alle Eigenschaften einer Zelle gespeichert. Jeweils zwei Eigenschaften einer Zelle können dann später miteinander in Verbindung gesetzt werden.

Durch das sogenannte „*GATING*“ werden nur solche Zellen zur Darstellung zugelassen, die bestimmte, vorher definierte Eigenschaften aufweisen.

So werden in der Zweifarben-Fluoreszenzanalyse (FL1/FL 2) nur solche Zellen erfaßt, die bestimmte Streulichteigenschaften (FSC/SSC) aufweisen. Durch entsprechende Auswahl der Streulichteigenschaften können selektiv nur bestimmte, vorher definierte Zellen erfaßt werden.

Will man sich schon bei der Datenaufnahme auf bestimmte Zellen beschränken, kann man anhand des LIVE-GATE Modus eine Diskriminierung bestimmter Zellen vornehmen [Raffael].

Alle Parameter der jeweiligen Analyse werden über eine logarithmische Intensitätsskala registriert, und für das quantitative Ergebnis wird dann die durchschnittliche Signalintensität entsprechend der Anzahl der analysierten Ereignisse errechnet.

Die Auswertung der Daten erfolgt entweder in *Einparameterdarstellung* oder in einer korrelierten *Zweiparameterdarstellung*.

Dabei entspricht die *Einparameterdarstellung* der Häufigkeitsverteilung bzw. dem Histogramm.

Die horizontale Achse steht für den Bereich der Klassen oder Kanäle (1 bis 1024; 1 bis 256), und die vertikale Achse zeigt die Anzahl der Zellen je Kanal. Somit kann nun die Verteilung eines Parameters, der die Zelleigenschaften widerspiegelt, in einer großen Zellpopulation beschrieben werden. Bei der Durchflußzytometrie mit Fluoreszenz-Farbstoffen ist die Fluoreszenzintensität direkt proportional zur Anzahl der vorhandenen Bindungsstellen bzw. Antigene. Je mehr Bindungsstellen, desto heller leuchtet demnach die Zelle bei der Bestrahlung. Zur richtigen Klassifikation der Zellen muß dem Durchflußzytometer vor Beginn der Messung die Definition für „positiv“ bzw. „leuchtende“ und „negativ“ bzw. „nicht-leuchtende“ Zellen eingegeben werden.

Außerdem muß das Ausmaß der Autofluoreszenz der einzelnen Zellen durch Zugabe eines Kontrollantikörpers („negative Kontrolle“) bestimmt werden, um dann bei der endgültigen Messung nur solche Zellen als „positiv“ einordnen zu können, deren Fluoreszenz über dem Wert der vorher bestimmten Autofluoreszenz liegt.

Zu guter Letzt erhält man das prozentuale Verhältnis „positiver“ und „negativer“ Zellen, welches dann unter Umständen Aussagen über bestimmte Zellpopulationen zuläßt.

Unter *korrelierter Zweiparameterdarstellung (Punktplot, DOT-PLOT)* versteht man die Verbindung zweier Parameter, wobei die Intensitätsachsen der beiden Parameter so in eine Matrix eingetragen werden, daß sich die Intensitätswerte in einem Punkt schneiden. Dieser Punkt steht damit für eine bestimmte Zelle und zeigt z.B. deren Größe und Fluoreszenz an. So können beispielsweise durch die korrelierte Darstellung von FSC (Größe) und SSC (Granularität) bestimmte Subpopulationen einer Zellpopulation identifiziert und dadurch eine Aussage über die Zusammensetzung einer Zellpopulation unter bestimmten Bedingungen gemacht werden.

Durch Verwendung der sogenannten *Kontourlinien-Darstellung* können Heterogenität und relative Größe der Zelle der jeweiligen Population gleich den „Höhenlinien“ einer topographischen Landkarte leichter interpretiert werden [Raffael].

Entsprechend der Histogrammauswertung bei der Einparameterdarstellung werden auch bei der korrelierten Zweiparameterdarstellung mittels einer Kontrollmessung die Bereiche der „positiven“ und „negativen“ Zellen definiert.

Bei der Thrombozytenfluoreszenzfärbung kommen monoklonale Antikörper zum Einsatz, die gegen definierte Epitope der Oberflächenmembran der Thrombozyten gerichtet sind. Diese monoklonalen Antikörper sind entweder direkt oder indirekt, d.h. über einen zweiten gegen den eigentlichen monoklonalen Antikörper gerichteten Antikörper, an den Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt.

Zur Kontrolle des Anteils des unspezifisch gebundenen Fluoreszenzfarbstoffes muß jede Probe zusätzlich mit einem unspezifischen, dem Isotyp des jeweiligen Antikörpers entsprechenden Antikörper (z.B. Mouse-IgG) gefärbt werden (→ Autofluoreszenz).

Das Ergebnis wird dann vom spezifischen Fluoreszenzhistogramm mit Hilfe entsprechender Softwareprogramme (z.B. Lysis II Version 1.1) elektronisch subtrahiert.

Durch den Einsatz von Standardpartikeln, die mit einer definierten Anzahl von FITC-Molekülen (**F**luorescein-**i**sothi**c**yanat) beladen sind, kann eine Kalibrationskurve mit einer Interassay-Varianz von weniger als 1 bis 3 % ermittelt werden. Nach entsprechender Korrektur mit Berücksichtigung des Fluoreszein/Proteinverhältnisses des markierten F(ab)<sub>2</sub>-FITC-Fragments kann man die Fluoreszenzintensität quantitativ in die Anzahl der Bindungsstellen umrechnen [Tschöpe (1)].

## 2.2.2 Blutentnahme

Im Gegensatz zu Erythrozyten und Leukozyten müssen Thrombozyten vorsichtiger analysiert werden, da ihre physiologische Funktion der Analyse im Wege steht bzw. erschweren kann.

So können Thrombozyten durch die Blutentnahme, die Probenvorbereitung und den hydrodynamischen Streß der durchflußzytometrischen Analyse voraktiviert werden. Auch durch ihre geringe Größe und ihre Streulichteigenschaften wird die Analyse erschwert, da man sie nur schwer von sogenannten Rauschimpulsen unterscheiden kann. Bei der Verwendung von monoklonalen Antikörpern als indirekte Markierungsmethode ist die Standardisierung der quantitativen Messung ebenfalls problematisch.

Aus diesen Gründen müssen zu folgenden Punkte unbedingt genaue Angaben gemacht werden, um zu aussagekräftigen Ergebnissen kommen zu können [Tschöpe (1)]:

- Probengewinnung
- Probenvorbereitung und Methodenprotokoll (s.u.)
- definierte Geräteeinstellung
- Fluoreszenzkalibrierung der fluorochromen Farbstoffe

Die Blutentnahme ist der „rate-limiting-step“ in der Thrombozytendiagnostik und steht damit im Vordergrund des Analysenganges. Um den Ist-Aktivierungszustand zum Untersuchungszeitpunkt unverfälscht widerspiegeln zu können, müssen Blutabnahme und Materialverarbeitung maximal standardisiert sein. Die Zielvorgabe ist, daß es durch die Blutabnahme zu keiner artifiziellen Thrombozytenaktivierung kommt und die Thrombozyten durch das Entnahmemedium möglichst frühzeitig im jeweiligen Ist-Zustand fixiert werden [Tschöpe (4)].

In Anlehnung an das Düsseldorfer Markierungsprotokoll der Arbeitsgruppe Zelluläre Hämostase [Tschöpe (5)] wurden die Blutentnahmen für diese Untersuchung ebenfalls unter standardisierten Bedingungen vorgenommen.

Als Punktionsnadel wurden nur solche mit einem maximal scharfen Schliff und einem Innendurchmesser von 1 mm verwendet.

Die Dauer der Entnahme, daß heißt die Zeit zwischen Austritt aus dem Gefäßsystem und dem vollständigen Eintritt des Blutes in das Entnahmemedium, wurde möglichst kurz gehalten, wobei eine Transmissionszeit von unter 1 Sekunde angestrebt wurde.

Die Patienten wurden zeitsynchron (morgens zwischen 8 und 10 Uhr), nüchtern und in Ruhe sitzend punktiert. Da der Großteil der Probanden ambulant zur Punktion kam, wurde vor der Punktion eine Ruhezeit von 30 Minuten eingehalten, um eine eventuelle Thrombozytenaktivierung durch hämodynamischen Streß während Belastung auszuschließen.

Es wurde angestrebt, ohne jegliche Venenstauung zu punktieren und, falls dies nicht möglich schien, wurde eine Venenstauung bis maximal 40 mmHg toleriert. Es wurde jeweils nur einmal zum gleichen Zeitpunkt punktiert.

### 2.2.3 Präparationsschema

- Vorlegen von 5 ml Paraformaldehydlösung (1 % in PBS, pH 7,4) in einem 10 ml Röhrchen
- Möglichst ungestaute venöse Entnahme von 5 ml Blut in 0,5 ml Entnahmemedium durch Punktion einer peripheren Vene mit einer Wassermannkanüle ( $\varnothing$  1,0 mm) bei Stauung mit maximal 40 mmHg unter Zuhilfenahme einer Blutdruckmanschette
- Das Blut sofort in vorgelegtes Paraformaldehyd laufen lassen (Endkonzentration 0,5 %) und 15 min bei Raumtemperatur stehen lassen
- Zentrifugation bei 100 g, 2 x 10 Minuten
- Überstand jeweils mit großzügigem Abstand zur Erythrozytenphase abheben,  
⇒ PRP (Plättchen-reiches-Plasma)
- Überstand verwerfen und das Pellet mit 1,8 ml Waschlösung und mit 200  $\mu$ l Rabbit-Serum vollständig resuspendieren
- PRP bei 700 g, 5 Minuten lang zentrifugieren
- Überstand verwerfen und das Pellet mit 1 ml Waschlösung vollständig resuspendieren
- Zählen der gewonnenen Thrombozyten im Coulter Counter und Einstellen auf 50.000/  $\mu$ l mit PBS
- zu 100  $\mu$ l der Plättchensuspension 25  $\mu$ l Antikörperlösung in austitrierter Sättigungskonzentration pipettieren und mischen.
- Inkubationszeit 1 Stunde bei Zimmertemperatur.
- Gegenmarkierung mit 50  $\mu$ l Anti-Mouse F(ab)<sub>2</sub>-FITC (*Fa. Sigma*)
- Inkubation 30 min im Dunkeln bei Zimmertemperatur
- Zugabe von 1 ml Waschlösung

- Zentrifugation bei 700 g, 5 Minuten
- 1 ml Überstand vorsichtig abpipettieren und mit 1 ml FACSFlow wieder auffüllen
- Messung von 10.000 Thrombozyten; Flow-Rate ca. 1000 Thrombozyten/Sekunde
- Auswertung mit Lysis-II-Software. Subtraktion von MsIgG im Overlay-Mode

## 2.2.4 Messung

### Geräteeinstellung

Filter FL1 DF 530/30

Filter FL2 DF 585/42

Kalibration der Kompensation und Sensitivität mit CaliBRITE Beads;

- FSC lin
- SSC lin
- FL1 log 4
- FL2 log 4

Bestimmung der quantitativen Fluoreszenzintensität mit QFMS Kit low level und QFMS Kit high level;

- FSC log 4
- SSC log 4
- FL1 log 4
- FL2 log 4

Berechnung der Regressionsgraden (vgl. Eichbuch)

Geräteeinstellung zur Thrombozytenmessung entspricht der zur Bestimmung der Fluoreszenzintensität;

- Trigger FSC ca. 450 / log 4

## **Thrombozytenmessung**

Messung von 10.000 Thrombozyten pro Probe;

Flow-Rate ca. 1000/Sekunde

Einstellen durch Verdünnen mit Sheath-Fluid

## **2.2.5 Probleme bei der Durchführung dieser Methode**

### **Geräteeichung**

Die absoluten Meßergebnisse (Mean FL1) hängen von der Geräteeichung ab.

Daher muß unbedingt ein Eichbuch geführt werden, anhand dessen durch Kalibration mit Beads eine konstante Sensitivität des Gerätes gewährleistet werden kann. Desweiteren muß anhand eines aktivierten Standards einmal pro Woche eine Markierungsüberprüfung durchgeführt werden.

### **Aggregation der Plättchen**

Hoch aktivierte Plättchen können bei der Präparation aggregieren, daher muß die Probe äußerst vorsichtig behandelt werden.

## **2.2.6 Auswertung**

Der Signal-Rausch-Spannungszustand Aktivierungsmarker-positiver Thrombozyten gegen den unspezifischen Hintergrund ist mit einer Dekade bei maximaler Thrombozytenstimulation erwartungsgemäß schmal. Daher war mit einer weiten Überlappung spezifischer und unspezifischer Thrombozytenmarkierung zu rechnen.

Die Analyse erfolgt mittels Lysis II-Software (Version 1.1) im Overlay-Mode, wobei die „region of interest“-Technik die Eingrenzung („Gating“) bestimmter Thrombozytensubpopulationen erlaubt. Weiterhin konnten solche Thrombozytensubpopulationen auch elektronisch angefärbt werden und simultan in allen Untersuchungsparametern dargestellt und identifiziert werden („imaging“, Paint-A-Gate) [Tschöpe (3)].

Durch Prozessierung der generierten Meßdatensätze, welche zu einer Steigerung der Sensitivität des Gesamtsystems führt, und die unspezifische Kontrolle mittels polyklonaler Maus-IgG wird die eventuelle Überlappung durch spezifische und unspezifische Markierung meßbar gemacht, indem von den Datensätzen der spezifisch markierten Thrombozyten die der unspezifischen Kontrolle subtrahiert wird [Tschöpe (3)].

### **Subtraktion**

Nach Überprüfung von FSC und SSC als Histogramm (Aggregate) erfolgt die Subtraktion von MsIgG von den spezifisch markierten Proben im FL1-Parameter. Der Subtraktionswert spiegelt die spezifisch gebundene Fluoreszenz der Antikörper abzüglich der unspezifischen Fluoreszenz eines Maus-Immunglobulins wieder („M 1“ in Abbildung 2.2). Die resultierende, korrigierte Fluoreszenz entspricht somit indirekt den jeweiligen auf der Thrombozytenmembran vorhandenen Epitopen und erlaubt eine Klassifizierung in aktivierte (positive) und nicht-aktivierte (negative) Thrombozyten [Tschöpe (3)]. Der dabei resultierende Wert entspricht dem prozentualen Anteil an aktivierten Plättchen (Abbildung 2.3; → Events: 14,58 %). Als Prozentwert der Thrombozytenaktivierung dient jeweils der Mittelwert aus drei Messungen pro Probe.

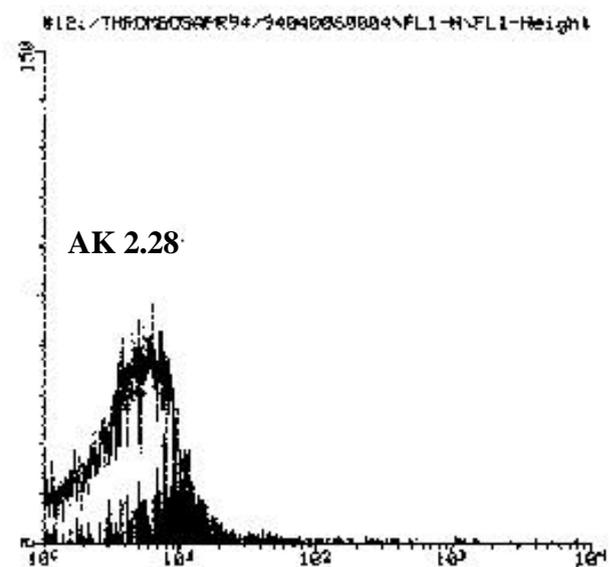
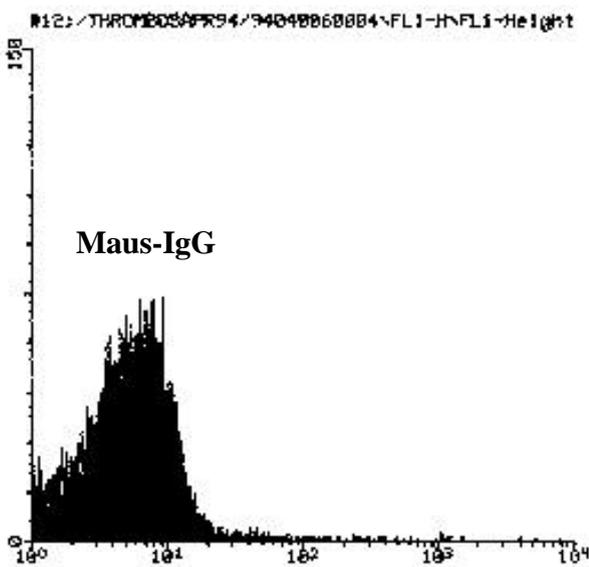
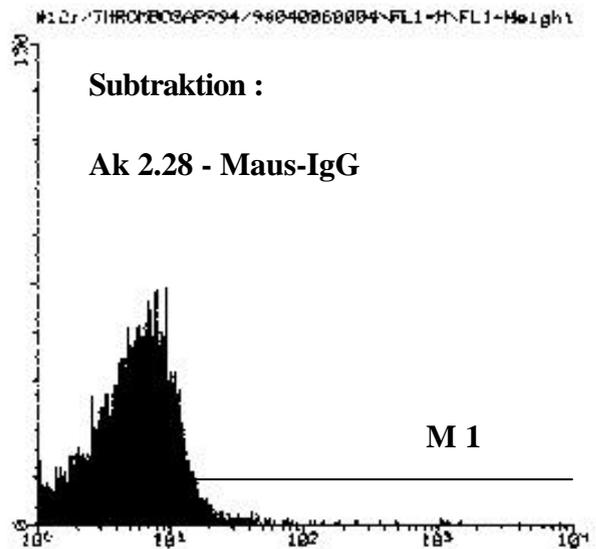
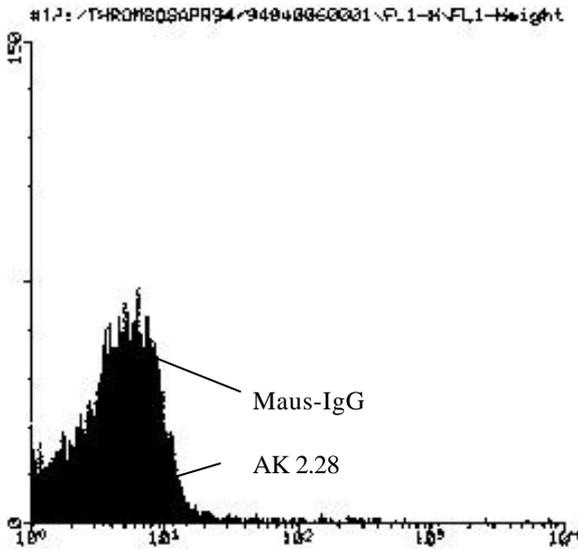


Abbildung 2.2: Histogramm eines Normalprobanden

#12:/THROMBOSAPR94/94040060004\FL1-H\FL1-Height

--- Arithmetic Histogramm Statistics for #12:/THROMBOSAPR94/94040060004 ---

Selected Preferences: Arithmetic/Linear      Parameter FL1-H FL-1 Height

M	Left, Right	Events	%	Peak	PkChl	Mean	Median	SD	CV%
0	1.00, 9910	1632	100,00	37	7,91	25,73	10,00	238,31	>100,0
1	4.66, 9910	<b>1458</b>	89,34	37	7,91	28,44	10,55	252,00	>100,0

Abbildung 2.3: Ergebnisausdruck eines Normalprobanden (FACScan)

Die Umrechnung der mittleren Fluoreszenzintensität (Mean FL1) in Moleküle/Plättchen erfolgt nach folgender Formel :

$$M/P = \frac{10^{ax+b}}{F/P}$$

$ax+b$  : Regressionsformel

F/P : Molekulare Fluoreszenz/Protein Ratio (Herstellerangabe)

## ***2.3 Patienten***

### **2.3.1 Normalkollektiv**

Das Normalkollektiv setzt sich vornehmlich aus medizinischem Personal (Ärztinnen, Ärzten, MTA's) und Studenten der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zusammen.

#### **Einschlußkriterien**

Das Normalkollektiv besteht aus Probanden, die keine klinisch relevanten Befunde oder Erkrankungen aufweisen.

Bei keinem der Probanden im Normalkollektiv waren ein MKP, ein MKPS oder entsprechende Symptome bekannt.

#### **Ausschlußkriterien**

Bis auf orale Kontrazeptiva wurden zum Zeitpunkt der Untersuchung keine für die Fragestellung dieser Arbeit relevanten Medikamente regelmäßig eingenommen. Eine eventuelle Einnahme von Acetylsalicylsäure oder anderen NSAR lag mit mehr als 14 Tagen bei allen Normalprobanden ebenfalls so lange zurück, daß eine Beeinflussung der Ergebnisse nicht zu erwarten war.

Schwerwiegende Vorerkrankungen, die eventuell Einfluß auf die Aktivierung von Thrombozyten haben könnten, waren bei keinem Normalprobanden bekannt.

Hereditäre Hyperkoagulopathien, wie zum Beispiel ein Protein C/S-Mangel, ein AT III-Mangel oder eine Faktor V-Mutation, waren ebenfalls bei keinem der Probanden bekannt.

### **2.3.2 MKP-Patientenkollektiv**

Sowohl das MKP-Kollektiv als auch das MKPS-Kollektiv besteht aus klinisch auffällig gewordenen Patienten, die sich ambulant oder stationär zur Untersuchung oder Behandlung in der Medizinischen Klinik B und der Augenklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf einfanden. Im Rahmen des Klinikaufenthaltes wurde bei diesen Patienten neben anderen Untersuchungen eine Echokardiographie (TTE,TEE) durchgeführt.

Die ursprünglichen Beschwerden der Patienten, die zum Aufsuchen der Klinik führten, reichten von Amaurosis fugax (Augenklinik) über Schwindel bis hin zu den sehr häufigen Herzrhythmusstörungen (Medizinische Klinik B).

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden 35 Patienten, bei denen man bei der echokardiographischen Untersuchung einen MKP bzw. ein MKPS festgestellt hatte, wurden mehrere Monate nach ihrem Klinikaufenthalt erneut zu einer ambulanten Blutentnahme einbestellt, welche gemäß des im Kapitel 2.2.1 dargestellten standardisierten Schemas erfolgte.

Die echokardiographischen Befunde der einzelnen Patienten wurden retrospektiv und doppelblind nochmals ausgewertet, wobei die echokardiographische Morphologie und Funktion der Mitralklappe in Verbindung mit den klinischen Symptomen und Befunden zur Einordnung des jeweiligen Patienten entweder in das MKP-Kollektiv oder in das MKPS-Kollektiv führte.

#### **Einschlußkriterien**

Eine Einordnung des jeweiligen Patienten in das MKP-Kollektiv erfolgte anhand der oben beschriebenen Diagnosekriterien (→ 1.2.4). Die Diagnose des MKP stützte sich vor allem auf den echokardiographischen Befund und wurde durch weitere apparative sowie klinische Befunde weiter abgerundet.

#### **Ausschlußkriterien**

Da die für die Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthese notwendige Cyclooxygenase durch Acetylsalicylsäure (Aspirin®) irreversibel blockiert wird, wurden zur Vermeidung eventueller Wechselwirkungen Patienten mit einer Einnahme von Acetylsalicylsäure weniger als 14 Tage vor der Blutentnahme aus dem MKP-Kollektiv ausgeschlossen. Allerdings beeinflusst die Einnahme von Acetyl-salicylsäure die Ergebnisse der durchflußzytometrischen Bestimmung der Thrombozyten-aktivierung mit monoklonalen Antikörper anscheinend nicht [Tschöpe (4), Pongratz2, Kolarov, Inoue].

### **2.3.3 MKPS-Patientenkollektiv**

#### **Einschlußkriterien**

Für die Diagnose des MKPS wurden zunächst einmal die gleichen echokardiographischen Kriterien zugrunde gelegt wie beim MKP, wobei die echokardiographisch nachgewiesene Verdickung der Mitralsegel, die im 2D-Echo sehr gut beurteilt werden kann, für die Diagnose des MKPS wegweisend war. Bei einer Verdickung  $\geq 5$  mm und einer starken myxmatösen Veränderung der Mitralklappe sowie einer der MKPS-Defintion ( $\rightarrow$  1.3.1) entsprechenden Anamnese und Befundkonstellation wurde der jeweilige Patient in das MKPS-Kollektiv eingeordnet. Diese Einordnung erfolgte ohne Kenntnis der Werte, die bei der durchfluß-zytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung erhoben worden waren.

#### **Ausschlußkriterien**

Für das MKPS-Kollektiv galten die gleichen Ausschlußkriterien wie für das MKP-Kollektiv.

## 2.4 Statistik

### **Beschreibende Statistik**

Arithmetischer Mittelwert ( $\bar{X}$ );

Standardabweichung ( $\pm SD$ );

Maximum;

Minimum.

### **Vergleichende Statistik [Sachs]**

Die Beziehung zwischen Beobachtungsvariablen wurde mit der Regressions- und Korrelationsanalyse getestet.

Sensitivität, Spezifität, positiver Vorhersagewert und negativer Vorhersagewert wurden gemäß der Bayesschen Formel unter Zuhilfenahme der Vierfeldertafel bestimmt.

Der statistische Vergleich zwischen den Ergebnisse der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung der einzelnen Kollektive wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Statistik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Herr Németh, Herr Siegler, Herr Blumöhr, Herr Juhra) mittels SAS-Softwareprogramm vorgenommen.

Die einzelnen Parameter wurden überwiegend mit dem Wilcoxon-Rangsummen-Test, zur Ergänzung teilweise auch noch mit dem approximierten Student-T-Test und dem Chi-Quadrat-Test ( $X^2$ ), auf Signifikanzen geprüft.

Der statistische Vergleich der Komplikationshäufigkeiten der einzelnen Kollektiven erfolgte gemäß dem Fisher-Test und dem Chi-Quadrat-Test ( $X^2$ ).

Das Signifikanzniveau wurde bei  $p \leq 0,05$  angesetzt.

## ***3. Ergebnisse***

### ***3.1 Thrombozytenaktivierung beim Normalkollektiv***

<b>ÜBERSICHT</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
<b>Normalkollektiv (x)</b>	<b>27,19</b>	<b>11,90</b>	<b>6,77</b>
<b>Standardabweichung</b>	<b>± 6,86</b>	<b>± 4,21</b>	<b>± 2,30</b>

Tabelle 3.1: *Mittelwert der Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)*

### **3.1.1 Zusammensetzung des Normalkollektivs**

Bei den 50 Probanden des Normalkollektivs handelte es sich überwiegend um Studenten, MTA's, medizinisches Hilfspersonal und Ärzte der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Das durchschnittliche Alter lag bei  $31,5 \pm 8,2$  Jahren, wobei die Spannweite des Alters zwischen 24 und 56 Jahren lag.

### **3.1.2 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.28**

Bei Markierung durch den Antikörper Ak 2.28 zeigte sich eine durchschnittliche Thrombozytenaktivierung von  $27,19 \% \pm 6,86 \%$ .

Das Maximum lag bei  $37,73 \%$  und das Minimum lag bei  $10,55 \%$ .

### **3.1.3 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.17**

Der Antikörper Ak 2.17 zeigte eine durchschnittliche Thrombozytenaktivierung von  $11,90 \% \pm 4,21 \%$ , wobei die Werte in einem Bereich zwischen  $20,45 \%$  und  $3,28 \%$  lagen.

### **3.1.4 Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak P10**

Die Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem Antikörper Ak P 10 lag bei  $6,77 \% \pm 2,30 \%$ , mit einem Maximum von  $14,17 \%$  und einem Minimum von  $2,42 \%$ .

### **3.1.5 Klinische Befunde**

Das Normalkollektiv setzte sich aus gesunden Probanden zusammen, bei denen weder ein MKP bzw. MKPS noch andere für die vorliegende Untersuchung relevanten Vorerkrankungen vorlagen und bei denen in der Vorgeschichte keine Beschwerden, wie zum Beispiel Schwindel, Dyspnoe, Synkopen, Palpitationen und Angina pectoris, aufgetreten waren.

### **3.1.6 Komplikationen**

Bei keinem der Patienten war es in der Vorgeschichte zu MKP- bzw. MKPS-typischen Komplikationen, wie zum Beispiel Mitralinsuffizienz, Endokarditis, Sehnenfadenruptur,

Herzrhythmusstörungen, zerebrale Ischämien, retinale Gefäßverschlüsse oder Lungenembolien, gekommen.

### ***3.2 Thrombozytenaktivierung bei Mitralklappenprolaps***

<b>ÜBERSICHT</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
<b>MKP-Kollektiv (x)</b>	<b>24,60</b>	<b>9,78</b>	<b>7,14</b>
<b>Standardabweichung</b>	<b>± 4,74</b>	<b>± 4,38</b>	<b>± 2,44</b>

Tabelle 3.2: Mittelwert ( $\bar{x}$ ) der Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

#### **3.2.1 Zusammensetzung des MKP-Kollektivs**

Das MKP-Kollektiv bestand aus 19 Patienten (n=19), von denen 13 weiblich und 6 männlich waren. Dies entspricht in etwa der Geschlechteraufteilung von 2 : 1, die in der Literatur beschrieben wird [169]. Das durchschnittliche Lebensalter lag bei  $52 \pm 14$  Jahren (Spannweite : 22-71 Jahre), das Durchschnittsgewicht bei  $70 \pm 13,3$  kg (Spannweite : 50-85 kg) und die durchschnittliche Körpergröße bei  $173 \pm 13$  cm (Spannweite : 160-186 cm).

### **3.2.2 MKP : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.28**

Die 19 Patienten des MKP-Kollektiv wiesen bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 eine durchschnittliche Thrombozytenaktivierung von 24,60 % bei einer Standardabweichung von  $\pm 4,74$  % auf. Das Maximum der nachgewiesenen Aktivierung lag bei 34,34 % und das Minimum bei 16,99 %.

### **3.2.3 MKP : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.17**

Für den Antikörper Ak 2.17 konnte ein durchschnittlicher Aktivierungswert von 9,78 % (Standardabweichung  $\pm 4,38$  %) ermittelt werden.

Die Werte lagen in einem Bereich zwischen 5,80 % und 24,63 %.

### **3.2.4 MKP : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak P 10**

Bei Markierung mit dem Antikörper Ak P 10 wurde eine durchschnittliche Thrombozytenaktivierung von 7,14 % gefunden. Die Standardabweichung lag bei  $\pm 2,44$  % und die Werte lagen zwischen 4,44 % (Minimum) und 15,61 % (Maximum).

### **3.2.5 Klinische Befunde des MKP-Kollektiv**

Bei der Beschreibung der einzelnen Kollektive und der Darstellung der Ergebnisse der durchflußzytometrischen Untersuchungen werden teilweise einzelne Patienten herausgegriffen und gesondert besprochen, wobei diese Patienten aus datenschutzrechtlichen Gründen mit einer Identitätsnummer (ID) versehen wurden.

## **Klinische Symptomatologie**

### ***Synkopen***

Bei 3 (16 %) der 19 MKP-Patienten war es in der Vorgeschichte zu Synkopen gekommen.

Ein Patient (ID 112) wies ursprünglich neben den Synkopen auch ein Wolff-Parkinson-White-Syndrom (WPW-Syndrom) auf, dessen akzessorische Bahnen dann jedoch durch Katheterablation beseitigt wurden. Ebenfalls ein WPW-Syndrom wies eine 41-jährige Patientin (ID 214) mit mehrfachen Synkopen in der Vorgeschichte auf, die zudem mehrfach Thrombosen erlitten hatte (s.u.). Eine junge Patientin (22 Jahre; ID 115) hatte in der Vorgeschichte mehrfach Synkopen erlitten, ohne dass die Ursache eindeutig geklärt werden konnte.

### ***Schwindel***

Ebenfalls 3 (16 %) der 19 MKP-Patienten gaben Schwindel (ID 115, 210, 214) in der Vorgeschichte an, wobei Schwindel als recht unspezifisches Symptom des MKP gilt.

### ***Angina pectoris***

Im MKP-Kollektiv gaben 6 (32 %) der Patienten Angina-pectoris Beschwerden an, wobei bei zwei dieser Patienten (ID 103, 106) eine Koronarangiographie durchgeführt wurde, die bei einer Patientin (ID 103) eine koronare Eingefäßkrankheit (60-70%ige RCA-Stenose ) zeigte.

### ***Dyspnoe***

Drei der MKP-Patienten (16 %) gaben an, zeitweise unter Dyspnoe (NYHA II-III; ID 119, 201, 211) zu leiden.

## **Diagnostik**

### ***Auskultation***

Von den 19 Patienten mit MKP wiesen 47 % (9/19) auskultatorisch ein Geräusch auf,

bei dem es sich entweder um ein mittelsystolisches Klickgeräusch oder ein spätsystolisches Geräusch handelte.

### ***Ergometrie***

Bei 21 % der Patienten (4/19) wurde die Ergometrie vorzeitig abgebrochen bzw. als pathologisch eingestuft, weil es unter der Belastung zu Tachykardie, Bluthochdruck, Angina-pectoris Beschwerden, Arrhythmien oder anderen EKG-Auffälligkeiten (z.B. ST-Senkungen) gekommen war.

### ***Echokardiographie***

Der Mitralklappenprolaps war in 28,6 % der Fälle holosystolisch und in 71,4 % der Fälle spätsystolisch. Das vordere Mitralsegel (AML) war in 100 % der Fälle und das hintere (PML) in keinem Fall am Prolaps beteiligt.

AML	100 %
PML	0 %
AML + PML	0 %
holosystolisch	28,6 %
spätsystolisch	71,4 %

Tabelle 3.3: *Echokardiographische Befunde beim MKP-Kollektiv*

Die echokardiographische Untersuchung der Patienten ergab folgende durchschnittliche Ergebnisse :

<b>Parameter</b>		<b>MKP</b>	<b>Norm</b>
<b>AO</b>	Aorta, Aortenwurzel	<b>29,84 mm</b>	20-37 mm
<b>LA</b>	linker Vorhof	<b>37,10 mm</b>	19-40 mm
<b>LVEDD</b>	LV-enddiastolischer Durchmesser	<b>47,42 mm</b>	35-57 mm
<b>LVESD</b>	LV-endsystolischer Durchmesser	<b>28,00 mm</b>	24-36 mm
<b>LVPW</b>	linksventrikuläre Hinterwand	<b>9,38 mm</b>	6-11 mm
<b>IVS</b>	Septum interventrikulare	<b>9,71 mm</b>	6-11 mm
<b>RV</b>	rechter Ventrikel	<b>24,33 mm</b>	≤ 25 mm
<b>DE-Ampl.</b>		<sup>3</sup> <b>17 mm</b>	≥17-25 mm

<b>EF-Slope</b>		<sup>3</sup> <b>70 mm/s</b>	<b>≥ 70 mm/s</b>
-----------------	--	-----------------------------	------------------

Tabelle 3.4: *Echokardiographische Befunde beim MKP-Kollektiv; Normwerte nach [37]*

### **Herzkatheteruntersuchung**

Bei zwei der MKP-Patienten (ID 103, 106) war eine Koronarangiographie vorgenommen worden, die bei einer Patientin (ID103) das Vorliegen einer KHK (60-70%ige RCA-Stenose) zeigte.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
MKP-Kollektiv (n= 18)	24,79	9,97	7,21
MKP und KHK (n= 1)	21,13	6,41	5,77

Tabelle 3.5: *Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)*

Die MKP-Patientin mit KHK zeigte im Vergleich zum Rest des MKP-Kollektivs leicht erniedrigte Werte der Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem Antikörpern Ak 2.28, Ak 2.17 und P 10, ohne dass die vorliegenden Daten ein statistische Analyse erlauben.

### **Laborbefunde**

Die Laborbefunde wurden retrospektiv ausgewertet, d.h. es wurden die Labordaten aus den Patientenakten verwendet, die bei der ursprünglichen ambulanten oder stationären Behandlung erhoben worden waren. Die Zeitspanne zwischen der Erhebung des Labor-status und der Blutentnahme für die Untersuchung der Thrombozytenaktivierung beim MKP-Kollektiv betrug durchschnittlich etwa 6,5 Monate und überschritt in keinem Fall mehr als 18 Monate.

Die durchschnittlichen Laborbefunde des MKP-Kollektivs zeigten bis auf einen hohen, aber nicht über der oberen Normgrenze liegenden Cholesterinwert keinerlei Auffälligkeiten.

Das Arteriosklerosisrisiko des MKP-Kollektiv wurde anhand des Quotienten aus Gesamtcholesterin und HDL-Cholesterin bewertet. Nur ein Patient (ID 103) aus dem MKP-Kollektiv zeigte einen Quotienten dessen Wert  $\leq 4,0$  war und der demnach als günstig einzuordnen war. Sieben Patienten aus dem MKP-Kollektiv hatten einen Quotienten dessen Wert  $\geq 4,5$  lag (Durchschnittswert 5,4 ) und der damit als ungünstig bzw. als atherogen anzusehen war. Das restliche MKP-Kollektiv zeigte

entweder neutrale Werte zwischen 4,0 und 4,5 oder die entsprechenden Laborbefunde waren nicht erhoben worden.

Legt man einen Gesamtcholesterinwert von 200 mg/dl zugrunde, der laut neuerer Studien angestrebt werden sollte [49], so wiesen etwas über die Hälfte der Patienten des MKP-Kollektivs erhöhte Cholesterinwerte auf (Maximum 314 mg/dl).

<b>Laborparameter</b>	<b>Durchschnittswert</b>	<b>Normbereich [121]</b>
Thrombozyten	247.636 / $\mu$ l	150.000-400.000/ $\mu$ l
Erythrozyten	4,68 Millionen/ $\mu$ l 4,57 Millionen/ $\mu$ l	Männer 4,3 - 5,6 Frauen 3,9 - 5,0
Leukozyten	6792 / $\mu$ l	4000-10.000/ $\mu$ l
Hämoglobin	13,33 g/dl 14,16 g/dl	Männer 14,0 - 17,5 Hb/dl; Frauen 12,0 - 15,5 Hb/dl
LDH	184 U/l	$\leq$ 240 U/l
CK	61 U/l 39 U/l	Männer $\leq$ 80 U/l; Frauen $\leq$ 70 U/l
GOT	12 U/l 11 U/l	Männer $\leq$ 17 U/l; Frauen $\leq$ 15 U/l
GPT	15 U/l 14 U/l	Männer $\leq$ 23 U/l; Frauen $\leq$ 19 U/l
Cholesterin	239 mg/dl	$\uparrow$ 25-40 Jahre : 140 -280 mg/dl; 40 - 60 Jahre 160 - 300 mg/dl
Triglyzeride	120 mg/dl	25-40 Jahre $\leq$ 240 mg/dl
HDL	45 mg/dl	30-80 mg/dl
LDL	170 mg/dl	25-40 Jahre 70-190 mg/dl
Kreatinin	1,03 mg/dl 0,9 mg/dl	Männer: 0,6 -1,2 mg/dl; Frauen 0.5 - 1,0 mg/dl
Harnstoff	14,3	
Quick:	86 %	70-100 %; nur bei wenigen Probanden durchgeführt
PTT	39 s	$\leq$ 40 s
Fibrinogen	232	

### **3.2.6 Komplikationen beim MKP-Kollektiv**

#### ***Mitralinsuffizienz***

Bei 26,3 % (5/19) der MKP-Patienten wurden echokardiographisch mittels Farbdoppler-Verfahren überwiegend leichtgradige (MI 0- $\text{I}^\circ$ ) und hämodynamisch unbedeutende Mitral-insuffizienzen festgestellt, die in keinem Fall als operationswürdig eingestuft wurden.

#### ***Endokarditis***

Bei keinem der Patienten wurde eine Endokarditis festgestellt.

#### ***Sehnensadenruptur***

Ein 59-jähriger Patient (ID 102) wies am vorderen Mitralsegel (AML) vereinzelte Sehnenfadenabriss auf. Gleichzeitig wurde bei diesem Patienten echokardiographisch eine geringgradige Mitralinsuffizienz festgestellt.

#### ***Herzrhythmusstörungen***

53 % der MKP-Patienten wiesen anamnestisch Herzrhythmusstörungen auf, wobei sich diese folgendermaßen verteilten :

27 % Ventrikuläre Extrasystolie

27 % Tachyarrhythmia absoluta bei Vorhofflimmern

18 % Sinustachykardien

18 % Wolf-Parkinson-White-Syndrom

(alle Patienten waren mit Katheterablation erfolgreich behandelt worden)

9 % andere Herzrhythmusstörungen

#### **Zerebrale Ischämien**

Bei einem der MKP-Patienten war es in der Vorgeschichte zu einer transitorisch ischämischen Attacke (TIA) gekommen (ID 112).

Ein PRIND oder ein apoplektischer Insult war bei keinem der 19 MKP-Patienten aufgetreten

### **Thromboembolische Komplikationen**

#### ***Amaurosis fugax***

Eine Patientin (58 Jahre; ID 219) aus dem MKP-Kollektiv hatte eine Amaurosis fugax erlitten.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
MKP-Kollektiv (n= 18)	24,06	8,95	7,22
MKP u. Amaurosis fugax (n= 1)	34,34	24,63	5,66

Tabelle 3.7: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Die Patientin wies außer einem spätsystolischem MKP mit assoziierter Mitralinsuffizienz (MI P) keine weiteren Risikofaktoren auf.

Bei dieser Patientin fanden sich in der durchflußzytometrischen Analyse Werte, die auf eine Thrombozytenaktivierung hinweisen. So wurde für den Ak 2.28 eine Aktivierung von 34,34 % und für den Ak 2.17 eine Aktivierung von 24, 63 % ermittelt. Der Antikörper Ak P 10 zeigte eine Aktivierung von 5,66 %.

#### ***Lungenembolie***

Im Vergleich zum restlichen MKP-Kollektiv fällt bei den beiden Patientinnen mit Lungenembolie (2/19; 11 %; ID 108, 119) bezüglich der Antikörper Ak 2.28 und Ak 2.17 eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung auf.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
MKP-Kollektiv (n= 17)	24,30	9,82	7,15
MKP u. Lungenembolie (n= 2)	30,12	11,02	7,15

Tabelle 3.8: *Thrombozytenaktivierung in Prozent*  
(%)

Eine dieser Patientinnen (ID 103) wies keine erhöhten Aktivierungswerte auf (Ak 2.28: 27,12 %; Ak 2.17: 9,66 %; Ak P 10: 5,99 %).

Die andere Patientin (34 Jahre; ID 108) hatte ein Jahr vor der Blutabnahme zwei aufeinander folgende Lungenembolien erlitten. Da sie einen Protein C-Mangel und Faktor XII-Mangel aufwies, war sie Marcumarisiert worden und wies zum Zeitpunkt der Blutentnahme einen Quickwert von 24 % auf. Diese Marcumarisierte Patientin wies eine Aktivierung von 33,12 % bei Analyse mit Ak 2.28 und 12,38 % bei Analyse mit Ak 2.17 auf, wobei diese Thrombozytenaktivierung eher als Ursache und nicht als Folge der Lungenembolien anzusehen ist, da die Lungenembolien mehr als ein Jahr zurücklagen. Andererseits zeigen diese Werte, dass diese Patientin ein aktiviertes Thrombozytensystem aufweist und somit trotz effektiver Marcumartherapie vermutlich ein weiterhin erhöhtes thromboembolisches Risiko anzunehmen ist.

Inwieweit die verwendete Methode bei der Therapiekontrolle und bei der Risikostratifizierung hilfreich sein kann, soll im Diskussionsteil (→ 4. Diskussion) erörtert werden.

### ***Thrombosen***

Drei MKP-Patientinnen hatten in der Vorgeschichte eine oder mehrere Thrombosen erlitten, wobei die erste Patientin (ID 103) sowohl eine Bein- als auch eine Beckenthrombose durchgemacht hatte, die zweite (ID 119) hatte eine Bein thrombose durchgemacht und die dritte (ID 214) hatte seit 1976 rezidivierend Thrombosen erlitten.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
MKP-Kollektiv (n=16)	24,91	9,91	7,18
MKP u. Thrombose (n= 3)	22,93	9,09	6,88

Tabelle 3.9:

Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Der Vergleich mit dem restlichen MKP-Kollektiv zeigt keinen Unterschied zwischen den MKP-Patienten mit und ohne Thrombosen in der Vorgeschichte, wobei bei den Patienten mit Thrombosen hinsichtlich des Antikörpers Ak 2.28 diskret verminderte Thrombozytenaktivierungswerte auffallen.

### ***Periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)***

Bei keinem der MKP-Patienten war anamnestisch eine gesicherte, periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) zu erheben.

### ***Plötzlicher Herztod***

Ein plötzlicher Herztod trat während der anderthalbjährigen Nachbeobachtungszeit nicht auf.

### **3.2.7 Thrombozytenaktivierung bei MKP und Mitralinsuffizienz**

Im Rahmen der Diskussion über die pathogenetische Verbindung des MKP bzw. des MKPS mit thromboembolischen Ereignissen einerseits sowie einer eventuellen Thrombozytenaktivierung andererseits trifft man oftmals auf den Einwand, dass die Ursache thromboembolischer Ereignisse und einer Thrombozytenaktivierung nicht das Prolabieren der Mitralsegel sei, sondern begleitende Faktoren, wie zum Beispiel eine zusätzlich vorliegende Mitralinsuffizienz mit entsprechendem Auskultationsbefund oder das Vorliegen einer Arrhythmia absoluta bei Vorhofflimmern.

Aus diesem Grunde soll auf die Thrombozytenaktivierung bei MKP bzw. MKPS unter besonderer Berücksichtigung bestimmter begleitenden Faktoren, die in der Literatur als Ursache einer erhöhten Thromboemboliegefahr diskutiert werden [71, 102], vergleichend eingegangen werden.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>	<b>LA (mm)</b>
Mitralinsuffizienz (n= 5)	25,43	9,15	8,03	44
keine Mitralinsuffizienz (n= 14)	23,95	10,15	6,88	35

Tabelle 3. 10: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Die Ergebnisse der durchflußzytometrischen Bestimmung der Thrombozytenaktivierung ergeben für alle drei verwendeten Antikörper sowohl bei Patienten mit als auch ohne Mitralinsuffizienz Werte, die sich statistisch nicht signifikant unterscheiden.

Eine den MKP begleitende Mitralinsuffizienz führt demnach nicht zu einer - statistisch signifikanten - Steigerung der Thrombozytenaktivierung.

Bei den MKP-Patienten mit Mitralinsuffizienz konnte echokardiographisch eine Erweiterung des linken Vorhofes auf 44 mm festgestellt werden, wohingegen die MKP-Patienten ohne Mitralinsuffizienz eine Größe des linken Vorhofes von 35 mm aufwiesen.

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv (n= 50)	27,19	11,90	6,77
MKP u. Mitralinsuffizienz (n= 5)	25,43	9,15	8,03
P-Wert	0,6981	0,0734	0,8113

Tabelle 3.11: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Vergleicht man nun die Thrombozytenaktivierung der MKP-Patienten mit Mitralinsuffizienz mit der Thrombozytenaktivierung beim Normalkollektiv, so zeigt sich, dass auch zwischen diesen Kollektiven kein statistisch signifikanter Unterschied besteht.

### **Komplikationen bei MKP-Patienten mit und ohne Mitralinsuffizienz**

Neben den Werten der Thrombozytenaktivierung sind in diesen Zusammenhang sicherlich auch die bei MKP-Patienten mit und ohne Mitralinsuffizienz aufgetretenen Komplikationen interessant. Die relativ geringe Anzahl der Patienten des MKP-Kollektives und der äußerst kurze Beobachtungszeitraum erlaubt dabei jedoch nur deskriptive und keine statistisch abgesicherte Aussagen.

Die MKP-typischen Komplikationen TIA und Amaurosis fugax waren ausschließlich bei Patienten ohne Mitralinsuffizienz aufgetreten. Lungenembolien wurden ebenfalls nur bei zwei Patienten ohne Mitralinsuffizienz beobachtet.

Ein positiver Auskultationsbefund (mittsystolischer Klick, systolisches Geräusch) fand sich bei Patienten mit Mitralinsuffizienz in 40 % der Fälle und bei Patienten ohne Mitralinsuffizienz in 50 % der Fälle.

### **3.2.8 Thrombozytenaktivierung bei MKP und Vorhofflimmern**

<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Vorhofflimmern (n= 3)	23,29	6,36	6,23
kein Vorhofflimmern (n= 16)	24,84	10,42	7,31

P-Wert	0,7799	0,0504	0,4674
--------	--------	--------	--------

Tabelle 3.12 : Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung lassen eine Verbindung zwischen Arrhythmia absoluta bei Vorhofflimmern und einer Thrombozytenaktivierung trotz der geringen Inzidenz des Vorhofflimmerns bei den MKP-Patienten eher unwahrscheinlich erscheinen. Die MKP-Patienten ohne Vorhofflimmern wiesen sogar tendenziell höhere Aktivierungswerte auf. Keiner der drei verwendeten Antikörper zeigte einen signifikanten Unterschied der Aktivierungswerte. Beim Antikörper Ak 2.17 wiesen die MKP-Patienten ohne Vorhofflimmern grenzwertig erhöhte Aktivierungswerte (P: 0,0504) auf.

### 3.2.9 Thrombozytenaktivierung bei MKP und positivem Auskultationsbefund

MKP-Kollektiv	Ak 2.28	Ak 2.17	Ak P 10
positiver Auskultationsbefund (n= 11)	24,78	9,25	7,45
negativer Auskultationsbefund (n= 9)	24,35	10,51	6,70

Tabelle 3. 13: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Im MKP-Kollektiv fanden sich bei den Patienten mit und ohne MKP-typischem Auskultationsbefund ähnliche Aktivierungsmuster. Die in der Literatur teilweise vorgenommene Einteilung in MKP-Patienten ohne typischen Auskultationsbefund und geringem Komplikationsrisiko einerseits und in MKP-Patienten mit spezifischem Auskultationsbefund und gesteigertem Komplikationsrisiko andererseits konnte durch die vorliegenden Ergebnisse nicht bekräftigt werden (→ 4. Diskussion).

### ***3.3 Thrombozytenaktivierung bei Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS)***

<b>ÜBERSICHT</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>32,69 %</b>	<b>10,94 %</b>	<b>6,92 %</b>
<b>Standardabweichung</b>	<b>± 4,71</b>	<b>± 4,31</b>	<b>± 1,40</b>

Tabelle 3. 14

#### **3.3.1 Zusammensetzung des MKPS-Kollektiv**

Das MKPS-Kollektiv bestand aus 16 Patienten (n=16), von denen 7 männlich und 9 weiblich waren. Das Durchschnittsalter lag bei  $43,25 \pm 16$  Jahren (Spannweite: 20-70 Jahre), das Durchschnittsgewicht bei  $67,9 \pm 8,7$  kg (52-80 kg) und die durchschnittliche Körpergröße bei  $170 \pm 8,8$  cm (160-186 cm).

Die Patienten mit MKPS waren im Schnitt fast 10 Jahre jünger als die Patienten mit MKP, wobei dieser Altersunterschied nicht statistisch signifikant war ( $P = 0,0819$ ) ( $\rightarrow$  4. Diskussion). Für das durchschnittliche Körpergewicht ( $P = 1,000$ ) und die durchschnittliche Körpergröße ( $P = 0,6921$ )

konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen dem MKPS- und dem MKP-Kollektiv festgestellt werden.

### **3.3.2 MKPS : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.28**

Der durchschnittliche Wert der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit MKPS, der mit dem Antikörper Ak 2.28 nachgewiesen wurde, lag bei 32,69 %.

Das Minimum innerhalb des Kollektivs lag bei 24,69 %, das Maximum bei 40,79 % und die Standardabweichung bei  $\pm 4,71$  %.

### **3.3.3 MKPS : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak 2.17**

Mit dem Antikörper Ak 2.17 wurde ein durchschnittlicher Subtraktions-Wert von 10,94 % gemessen (Standardabweichung  $\pm 4,31$  %). Es wurden Werte zwischen 6,93 % (Minimum) und 23,70 % (Maximum) registriert.

### **3.3.4 MKPS : Thrombozytenaktivierung beim Nachweis mit Ak P 10**

Beim Einsatz des Antikörpers Ak P 10 wurde eine durchschnittliche Aktivierung der Thrombozyten von 6,92 % nachgewiesen. Die Standardabweichung lag bei  $\pm 1,40$  % und die Werte bewegten sich zwischen 5,25 % (Minimum) und 10,55 % (Maximum).

### **3.3.5 Klinische Befunde des MKPS-Kollektiv**

#### **Klinische Symptomatologie**

##### ***Synkopen***

Bei 3 der 16 MKPS-Patienten (19 %; MKP: 16 %) war es in der Vorgeschichte zu Synkopen gekommen, wobei bis auf das MKPS keine andere Ursache für die Synkopen gefunden werden konnte.

So waren beispielsweise bei einer 30-jährigen Patientin (ID 208) aus dem MKPS-Kollektiv eine Synkope und zwei Präsynkopen 22 bzw. 21 und 16 Monate vor der Blutentnahme aufgetreten. Die durchflußzytometrische Analyse der Thrombozyten-aktivierung zeigte bei dieser Patientin eine deutlich gesteigerte Thrombozyten-aktivierung 32,74 % bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 (Ak 2.17 : 10,21%; Ak P 10 : 7,66%).

### ***Schwindel***

Schwindel trat bei 4 MKPS-Patienten auf, wobei der Fall eines 23-jährigen MKPS-Patienten (ID 217) exemplarisch vorgestellt werden soll. Der 186 cm große und 65 kg schwere Patient war durch Herzrhythmusstörungen (Ventrikulärer Bigeminus), die er als Herzstolpern beschrieb, aufgefallen. Neben gelegentlichem Schwindel klagte der Patient über Auftreten von Müdigkeit und zeitweise auch über Herzstiche. Er gab zudem an, dass seine Hände in Ruhe und verstärkt bei Aufregung zittern würden. Die körperliche und apparative Untersuchung ergab bis auf das echokardiographisch gesicherte Vorliegen eines MKPS, einem über Aorta und Erb auskultierbarem leisem mittelfrequenten Frühsystolikum ohne sichere Fortleitung und den o.g. Rhythmusstörungen keinerlei pathologische Ergebnisse. Dieser Patient zeigt die teilweise recht unspezifischen Symptome (Müdigkeit, Schwindel), die beim MKPS auftreten können. Die Rhythmusstörungen und der feinschlägige Tremor können dabei eventuell als Komplikationen einer neuroendokrinen bzw. autonomen Dysfunktion [14, 15], auf die bereits im Kapitel 1.3.5 eingegangen wurde, gewertet werden.

Die Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 ergab bei diesem MKPS-Patienten eine deutlich gesteigerte Thrombozytenaktivierung (Ak 2.28: 35,88 %; Ak 2.17: 9,52 %; Ak P 10: 5,92).

### **Angina pectoris**

Fünf Patienten (ID 104, 204, 208, 212, 217) gaben Angina-pectoris-Beschwerden an, wobei es weder bei nicht-invasiver (208, 217) noch bei invasiver (104, 204, 212) Diagnostik (Koronarangiographie) Hinweise auf ein morphologisches Korrelat im Bereich der Makrostrombahn gab.

Auf die Schwierigkeiten bei der Differenzierung zwischen Angina pectoris einerseits und „thorakalen Schmerzen“ und „Herzstichen“ andererseits bei Patienten mit MKPS wurde bereits im Einführungsteil (→ 1.3.5) eingegangen.

## ***Dyspnoe***

25 % der MKPS-Patienten (4/16) klagten anamnestisch über Dyspnoe-Beschwerden, die zumeist bei körperlicher Belastung auftraten (NYHA II-III).

## **Diagnostik**

### ***Auskultation***

Von den 16 MKPS-Patienten wiesen 44 % (7/16) auskultatorisch ein Geräusch auf, bei dem es sich entweder um ein mittelsystolisches Klickgeräusch oder ein spätsystolisches Geräusch handelte. Bei 4 dieser 7 MKPS-Patienten lag gleichzeitig eine Mitral-insuffizienz vor, andererseits fand sich bei zwei Patienten mit Mitralinsuffizienz kein auskultatorischer Befund.

### ***Ergometrie***

Bei 33 % der Patienten wurde die Ergometrie vorzeitig abgebrochen bzw. als pathologisch eingestuft, weil es unter der Belastung zu Tachykardie, Bluthochdruck, Angina-pectoris Beschwerden, Dyspnoe, Arrhythmien oder EKG-Auffälligkeiten (ST-Senkungen während bzw. nach Belastung) gekommen war.

### ***Echokardiographie***

Der Mitralklappenprolaps war in 58 % der Fälle holosystolisch und in 42 % der Fälle spätsystolisch. Das vordere Mitralsegel (AML) war in 50 % der Fälle, das hintere (PML) in 14 % der Fälle und beide Segel (AML + PML) waren in 36 % der Fälle am Prolaps beteiligt.

AML	50 %
PML	14 %
AML + PML	36 %

holosystolisch	58 %
spätsystolisch	42 %

Tabelle 3.15: *Echokardiographische Befunde beim MKPS*

Bei den Patienten mit gleichzeitigem Prolaps des AML und des PML fiel bei Markierung mit dem Ak 2.28 und dem Ak 2.17 eine gesteigerte Thrombozyten-aktivierung auf (Ak 2.28: 35,19 %; Ak 2.17: 14,0 %; Ak P 10: 6,72 %), während die Thrombozytenaktivierung der Patienten mit ausschließlichem Prolaps eines Segels (AML oder PML) im Bereich der durchschnittlichen Thrombozytenaktivierung des MKPS-Kollektiv lag (→ 4. Diskussion).

Die echokardiographische Untersuchung der Patienten ergab folgende durchschnittlichen Ergebnisse :

Parameter		MKPS	Norm
<b>AO</b>	Aorta, Aortenwurzel	<b>30,29 mm</b>	20-37 mm
<b>LA</b>	linker Vorhof	<b>35,56 mm</b>	19-40 mm
<b>LVEDD</b>	LV-enddiastolischer Durchmesser	<b>48,69 mm</b>	35-57 mm
<b>LVESD</b>	LV-endsystolischer Durchmesser	<b>34,15 mm</b>	24-36 mm
<b>LVPW</b>	linksventrikuläre Hinterwand	<b>9,46 mm</b>	6-11 mm
<b>IVS</b>	Septum interventrikulare	<b>10,21 mm</b>	6-11 mm
<b>RV</b>	rechter Ventrikel	<b>24,36 mm</b>	≤ 25 mm
<b>DE-Ampl.</b>		<sup>3</sup> <b>17 mm</b>	≥ 17-25 mm
<b>EF-Slope</b>		<sup>3</sup> <b>70 mm/s</b>	≥ 70 mm/s
<b>HF</b>	Herzfrequenz	<b>74 /min</b>	

Tabelle 3.16: Normwerte

nach [37]

### ***Herzkatheteruntersuchung***

Bei drei der MKPS-Patienten (ID 104, 204, 212), die über pektanginöse Beschwerden klagten, war eine Koronarangiographie vorgenommen worden, ohne dass sich pathologische Veränderungen im Bereich der Makrostrombahn nachweisen ließen.

### **Laborbefunde**

Die Zeitspanne zwischen dem Laborstatus und der Blutentnahme für die Untersuchung der Thrombozytenaktivierung beim MKPS-Kollektiv betrug durchschnittlich etwa 5 Monate und überschritt in keinem Fall mehr als 18 Monate.

Ebenso wie bei MKP-Kollektiv finden sich auch beim MKPS-Kollektiv besonders im Bereich der Laborbefunde des Fettstoffwechsels Werte, die von der Norm abweichen. So fanden sich ebenfalls bei über der Hälfte der MKPS-Patienten Gesamtcholesterinwerte über 200 mg/dl. Zwei Patienten zeigten Werte des Cholesterin/HDL-Cholesterin-Quotienten, die unter 4,0 lagen, drei Patienten lagen oberhalb eines Wertes von 4,5 und das restliche Kollektiv zeigte entweder unauffällige Werte oder die entsprechenden Daten waren nicht erhoben worden.

<b>Laborparameter</b>	<b>Durchschnittswert</b>	<b>Normbereich [121]</b>
Thrombozyten	246.000 / $\mu$ l	150.000-400.000/ $\mu$ l
Erythrozyten	4,88 Millionen/ $\mu$ l 4,65 Millionen/ $\mu$ l	Männer 4,3 - 5,6; Frauen 3,9 - 5,0
Leukozyten	6706 / $\mu$ l	4000-10.000 / $\mu$ l
Hämoglobin	14,34 g/dl 13,84 g/dl	Männer 14,0 - 17,5 Hb/dl; Frauen 12,0 - 15,5 Hb/dl
LDH	156 U/l	$\leq$ 240 U/l
CK	32 U/l	Männer $\leq$ 80 U/l; Frauen $\leq$ 70 U/l
GOT	9 U/l 11 U/l	Männer $\leq$ 17 U/l; Frauen $\leq$ 15 U/l
GPT	12 U/l 12 U/l	Männer $\leq$ 23 U/l; Frauen $\leq$ 19 U/l
Cholesterin	254 mg/dl	$\uparrow$ 25-40 Jahre : 140 -280 mg/dl; 40 - 60 Jahre 160 - 300 mg/dl
Triglyzeride	180 mg/dl	25-40 Jahre $\leq$ 240 mg/dl
HDL	52 mg/dl	30-80 mg/dl

LDL	202 mg/dl	-	25-40 Jahre 70-190 mg/dl
Kreatinin	1,02 mg/dl 0,74 mg/dl		Männer: 0,6 -1,2 mg/dl; Frauen 0.5 - 1,0 mg/dl
Harnstoff	14,3		
Quick:	80 %		70-100 %; nur bei wenigen Probanden durchgeführt
PTT	42 s	↑	≤ 40 s ; nur bei wenigen Probanden durchgeführt
Fibrinogen	247		

Tabelle 3.17

Eine direkte Wechselwirkung der erhöhten Fettstoffwechselwerte mit den Ergebnissen dieser Arbeit ist sicherlich nicht zu erwarten und wäre, auch wenn man sie aufgrund arteriosklerotischer Läsionen bei erhöhten Werten des Fettstoffwechsels ggf. fordern würde, bei beiden Kollektiven in etwa gleichem Umfang gegeben.

Die Thrombozytenzahlen des MKP- und des MKPS-Kollektives unterschieden sich nicht signifikant, wobei die Thrombozytenzahl beim MKPS-Kollektiv (246.000/ $\mu$ l) etwas niedriger war als beim MKP-Kollektiv (251.600/ $\mu$ l). Ansonsten fanden sich keine (statistischen) Auffälligkeiten bzw. Unterschied zwischen den Laborparametern des MKP- und des MKPS-Kollektives.

### 3.3.6 Komplikationen beim MKPS-Kollektiv

#### *Mitralinsuffizienz*

Bei 37,5 % der Patienten wurde echokardiographisch eine überwiegend leichtgradige (MI 0- $\Gamma$ ), hämodynamisch unbedeutende Mitralinsuffizienz beobachtet.

### ***Sehnenfadenruptur***

Eine Sehnenfadenruptur war bei keinem MKPS-Patienten festzustellen.

### ***Endokarditis***

Eine Endokarditis wurde bei keinem der MKPS-Patienten anamnestisch bzw. klinisch diagnostiziert.

### ***Herzrhythmusstörungen***

10 (62,5 %) von den 16 MKPS-Patienten wiesen Herzrhythmusstörungen auf (Ventri-kuläre Extrasystolie (VES) 5 Patienten; Bigeminus (2:1): 1 Patient; Supraventrikuläre Extrasystolie (SVES): 1 Patient; Sinustachykardie: 1 Patient; Tachyarrhythmia absoluta bei Vorhofflimmern: 1 Patient; Andere HRST: 1 Patient).

### **Zerebrale Ischämien**

Bei einem Patienten (ID 101) aus dem MKPS-Kollektiv war 4 Jahre vor der Blutentnahme eine TIA aufgetreten.

Dieser Patient wies bei Markierung durch den Antikörper Ak 2.28 mit 37,84 % eine erheblich gesteigerte Thrombozytenaktivierung auf (Ak 2.17 : 9,13; Ak P 10 : 5,93).

Ein PRIND und ein apoplektischer Insult war bei keinem der MKPS-Patienten vor der Untersuchung aufgetreten.

### **Thromboembolische Komplikationen**

#### ***Amaurosis fugax***

2 (12,5 %) der MKPS-Patienten (ID 104, 205) hatten anamnestisch eine Amaurosis fugax erlitten.

Diese Ereignisse lagen 2 (ID 104) bzw. 8 (ID 205) Monate vor der Blutentnahme.

Beide Patienten wiesen - vor allem hinsichtlich der Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 - eine erhöhte Thrombozytenaktivierung auf (Ak 2.28 → ID 104: 31,35; ID 205: 40,79).

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
MKPS-Kollektiv (n=14)	32,21	11,14	6,95
MKPS u. Amaurosis (n= 2)	36,07	9,57	7,93

Tabelle 3.18 : Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

### ***Lungenembolie***

Eine Lungenembolie war bei keinem MKPS-Patienten aufgetreten.

### ***Plötzlicher Herztod***

Ein plötzlicher Herztod trat innerhalb der Nachbeobachtungszeit von anderthalb Jahren bei keinem der MKPS-Patienten auf.

Allerdings verstarb eine MKPS-Patientin (ID 116) anderthalb Jahre nach der Blutentnahme im Alter von 47 Jahren an einer Subarachnoidalblutung (Schädel-CT-gesichert). Sie war an ihrem Arbeitsplatz leblos aufgefunden und dann unter Reanimationsmaßnahmen in die Klinik eingeliefert worden. Bis auf ein MKPS und eine labile arterielle Hypertonie waren bei ihr keinerlei Vorerkrankungen bekannt.

### ***Schwangerschaft***

Eine dreißigjährige MKPS-Patientin war zum Zeitpunkt der Blutentnahme schwanger. Die Werte der Thrombozytenaktivierung (Ak 2.28: 37,68 %; Ak 2.17: 11,71 %; Ak P 10 : 7,86 %) waren zum Teil stark erhöht, wobei die Patientin außer der Schwangerschaft, zeitweisen Rhythmusstörungen (Bigeminus) und dem MKPS keinerlei klinische Auffälligkeiten aufwies. In der Literatur finden sich wenig Angaben sowohl zu dem Bereich Schwangerschaft und Thrombozytenaktivierung als auch zu dem Bereich Risiken von MKPS-Patientinnen während einer Schwangerschaft, wobei den MKPS-Patientinnen bis auf die MKPS-spezifischen Komplikationen überwiegend eine gute Prognose sowohl bezüglich der Mutter als auch bezüglich des Kindes zugeschrieben wird [169].

### ***Neuropsychiatrische bzw. psychosomatische Beschwerden***

Eine 20-jährige Patientin (ID 114) mit MKPS, bei der seit 3 Jahren Herzrasen und prä-kollaptische Zustände bekannt waren, wurde zur Vorstellung in einer psycho-somatischen Klinik vorgesehen, um das bereits umfangreich voruntersuchte, attackenweise auftretende Herzrasen weiter abzuklären.

## **3.3.7 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und Mitralinsuffizienz**

Die MKPS-Patienten mit Mitralinsuffizienz zeigen im Vergleich zu MKPS-Patienten ohne Mitralinsuffizienz keine signifikant höhere Thrombozytenaktivierung.

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>	<b>LA (mm)</b>
Mitralinsuffizienz (n= 6)	32,35	10,39	6,76	39
keine Mitralinsuffizienz (n= 10)	32,13	11,12	6,95	34,1

Tabelle 3. 19: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Die echokardiographische Untersuchung ergab bei den MKPS-Patienten sowohl mit als auch ohne Mitralinsuffizienz eine normwertige Größe des linken Vorhofes (LA: 39 vs. 34,1). Die Steigerung der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit MKPS wird somit, wie diese Ergebnisse zeigen, nicht durch eine begleitende Mitralinsuffizienz hervorgerufen (→ 4. Diskussion).

Sowohl die MKPS-Patienten mit Mitralinsuffizienz als auch die ohne Mitralinsuffizienz zeigten bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 im Vergleich zum Normalkollektiv eine signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung (Tabelle 3. 20 und 3.21).

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
Mitralinsuffizienz (n= 6)	32,35	10,39	6,76
P-Wert	<b>* 0,0455</b>	0,2954	0,7107

Tabelle 3.20 :Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
keine Mitralinsuffizienz (n=10)	32,13	11,12	6,95
P-Wert	<b>* 0,0346</b>	0,2043	0,3070

Tabelle 3. 21: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Das Vorhandensein einer Mitralinsuffizienz bei MKPS kann aufgrund dieser Ergebnisse wohl nicht als eigenständiger Risikofaktor für thromboembolische Ereignisse aufgrund einer erhöhten Thrombozytenaktivierung angesehen werden.

Hinsichtlich der MKPS-typischen Komplikationen zeigt sich, dass bei beiden Patienten mit Amaurosis fugax eine Mitralinsuffizienz vorhanden war.

Bei 66 % der MKPS-Patienten mit Mitralinsuffizienz konnte ein positiver Auskultationsbefund erhoben werden.

Beim Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Mitralinsuffizienz beider Kollektive (zusammengefaßtes MKP-/MKPS-Kollektiv) zeigten die Patienten mit Mitralinsuffizienz leicht erhöhte, aber nicht signifikant unterschiedliche Werte der Thrombozytenaktivierung.

<b>MKP- und MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Mitralinsuffizienz (n=11)	30,35	9,79	7,35
keine Mitralinsuffizienz (n=24)	27,36	10,55	6,91

Tabelle 3. 22: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Die Patienten des zusammengefaßten MKP-/MKPS-Kollektiv mit Mitralinsuffizienz zeigten bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 im Vergleich zum Normalkollektiv eine diskrete, statistisch nicht signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung (Tab.: 3.23), wohingegen die Patienten des MKP-/MKPS-Kollektives ohne Mitralinsuffizienz eine dem Normalkollektiv entsprechende Aktivierung aufwiesen (Tab.: 3.24).

<b>MKP- und MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
Mitralinsuffizienz (n=11)	30,35	9,79	7,35
P-Wert	0,2564	0,0569	0,6525

Tabelle 3. 23: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

***Durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit höhergradiger Mitralinsuffizienz vor elektivem Mitralklappenersatz***

<b>MI-</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>	<b>MI-Grad</b>	<b>MÖF</b>
------------	----------------	----------------	----------------	----------------	------------

Vergleichskollektiv					
Patient 1	18,11	5,81	5,06	III	1,3
Patient 2	30,07	20,69	6,47	III-IV	3
Patient 3	37,32	38,52	7,42	III	2,3
Patient 4	27,77	5,03	5,82	III	k.A.
<b>MITTELWERT (x)</b>	<b>28,32</b>	<b>17,51</b>	<b>6,19</b>		<b>2,2</b>
Standardabweichung	7,93	15,75	1,01		0,85

Tabelle 3.24: Thrombozytenaktivierung (in %) bei Patienten mit hochgradiger Mitralinsuffizienz

Bei vier Patienten mit höhergradiger Mitralinsuffizienz, denen vor einem bevorstehenden operativen Klappenersatz Blut zur durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenfunktion entnommen worden war, fanden sich im Gegensatz zum MKP- bzw. MKPS-Kollektiv zum Teil erheblich gesteigerte Thrombozytenaktivierungswerte (v.a. Ak 2.28, Ak 2.17), wobei ein statistischer Vergleich zwischen diesem kleinem Vergleichskollektiv und dem MKPS-Kollektiv mit Mitralinsuffizienz bzw. dem MKP-Kollektiv mit Mitralinsuffizienz auf Grund der geringen Anzahl der Patienten nicht möglich ist.

Es fällt jedoch auf, dass die Markierung mit den Antikörpern Ak 2.28 und Ak 2.17 bei den Patienten 2 und 3 eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung zeigt, wobei insbesondere die stark gesteigerte P-selectin-Expression auffällt (→ 4.1.2, 4.1.4).

### 3.3.8 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und Vorhofflimmern

Da nur ein Patient im MKPS-Kollektiv Vorhofflimmern aufwies, ist eine vergleichende statistische Auswertung zwischen MKPS-Patienten mit und ohne Vorhofflimmern nicht aussagekräftig. Und obwohl Vorhofflimmern und die damit verbundene Arrhythmia absoluta in der Literatur eindeutig mit thromboembolischen Ereignissen in Verbindung gebracht werden, fanden sich bei diesem einen MKPS-Patienten mit Vorhofflimmern Aktivierungswerte, die in etwa denen des MKP-Kollektivs und des Normalkollektivs entsprachen.

Die Patienten mit MKPS und ohne Vorhofflimmern wiesen durchweg höhere Aktivierungswerte auf, wobei die Erhöhung der Thrombozytenaktivierung nicht signifikant war.

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Vorhofflimmern (n= 1)	26,93	8,60	5,82
kein Vorhofflimmern (n=15)	33,08	11,10	7,02
P-Wert	0,2781	0,2781	0,3852

Tabelle 3. 25: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

<b>MKP-und MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Vorhofflimmern (n= 4)	24,20	6,92	6,13
kein Vorhofflimmern (n=31)	28,83	10,75	7,17
P-Wert	0,2040	<b>* 0,0119</b>	0,3120

Tabelle 3. 26 : Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

### **3.3.9 Thrombozytenaktivierung bei MKPS und positivem Auskultationsbefund**

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
positiver Auskultationsbefund (n=7)	34,24	10,77	6,66
negativer Auskultationsbefund (n=9)	31,50	11,07	7,2

Tabelle 3. 27: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Bei den 7 MKPS-Patienten (43,75 %) mit positivem Auskultationsbefund zeigte der Antikörper Ak 2.28 eine Aktivierung von 34,24 % im Gegensatz zu den Patienten ohne Auskultationsbefund (56,25 %), bei denen er eine Aktivierung von 31,50 % (Ak 2.28) zeigte.

Bei Verwendung des Antikörpers Ak 2.17 wurde bei positivem Auskultationsbefund eine Aktivierung von 10,77 % und bei negativem Auskultationsbefund eine Aktivierung von 11,07 %

gefunden. Der Antikörper Ak P 10 ergab eine Aktivierung von 6,66 % bei positivem und 7,20 % bei negativem Auskultationsbefund.

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
positiver Auskultationsbefund (n=7)	34,24	10,77	6,66
P-Wert	<b>* 0,0103</b>	0,2847	0,9806

Tabelle 3. 28. Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
negativer Auskultationsbefund (n=9)	31,50	11,07	7,2
P-Wert	0,1068	0,2097	0,1547

Tabelle 3. 29: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Vergleicht man die Thrombozytenaktivierung des Normalkollektives mit der Aktivierung bei MKPS-Patienten mit positivem oder negativem Auskultationsbefund, so zeigt sich, dass MKPS-Patienten mit positivem Auskultationsbefund bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 eine signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung aufweisen ( $P \leq 0,0103$ ) (Tab.: 3.28). Die Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 zeigt zwar auch bei den MKPS-Patienten mit negativem Auskultationsbefund eine Erhöhung der Thrombozytenaktivierung, diese ist jedoch nicht statistisch signifikant. Die übrigen Aktivierungswerte zeigen ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede.

57 % der Patienten mit positivem Auskultationsbefund und 22 % der Patienten mit negativem Auskultationsbefund wiesen eine Mitralinsuffizienz auf.

Hinsichtlich möglicher Komplikationen wurden keine grundlegenden Unterschiede zwischen den MKPS-Patienten mit und ohne typischen Auskultationsbefund gefunden.

Lediglich Arrhythmien scheinen bei Patienten ohne Auskultationsbefund mit 77 % häufiger zu sein als bei Patienten mit positivem Auskultationsbefund (43 %).

## 3.4 Statistischer Vergleich der Kollektive

### 3.4.1 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKP/MKPS-Kollektiv

	Ak 2.28	Ak 2.17	Ak P 10
<b>Normalkollektiv</b>	<b>27,19</b>	<b>11,90</b>	<b>6,77</b>
<b>MKP/MKPS</b>	<b>28,30</b>	<b>10,31</b>	<b>7,05</b>
P-Wert	0,5890	0,0082	0,2280

Tabelle 3.30: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Zunächst einmal wurden die Aktivierungswerte des Normalkollektivs (n= 50) mit den Werten aller Patienten sowohl aus dem MKP-Kollektiv als auch dem MKPS-Kollektiv (MKP-/MKPS-Kollektiv; n= 35) verglichen (Tab.: 3.30).

Bei diesem Vergleich zeigten sich zwischen den Aktivierungswerten des Normalkollektivs und des zusammengefaßten MKP-/MKPS-Kollektivs bei der Markierung mit den Antikörpern Ak 2.28 und Ak P 10 keine Unterschiede.

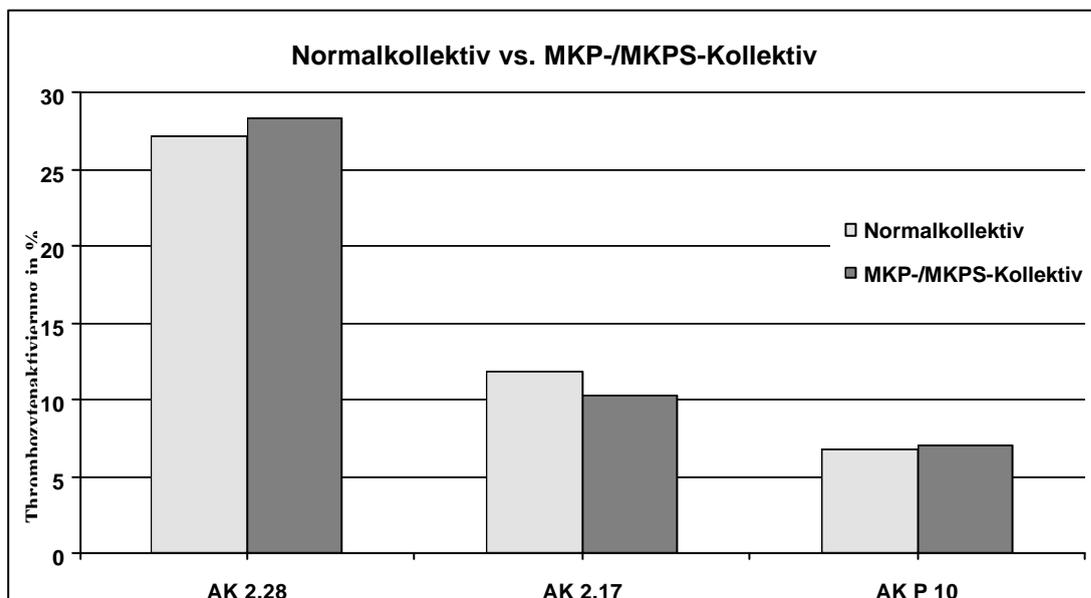


Abbildung : 3.1

### 3.4.2 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKP-Kollektiv

	Ak 2.28	Ak 2.17	Ak P 10
Normalkollektiv	27,19	11,90	6,77
MKP-Kollektiv	24,60	9,78	7,14
P-Wert	0,1026	* 0,0101	0,3575

Tabelle : 3.31: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Das MKP-Kollektiv weist bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 im Vergleich zum Normalkollektiv eine niedrigere, nicht signifikant unterschiedliche Thrombozytenaktivierung auf. Bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.17 zeigte sich beim MKP-Kollektiv ein signifikant niedriger Antigenmarkierungswert als beim Normalkollektiv ( $P \leq 0,0101$  \*).

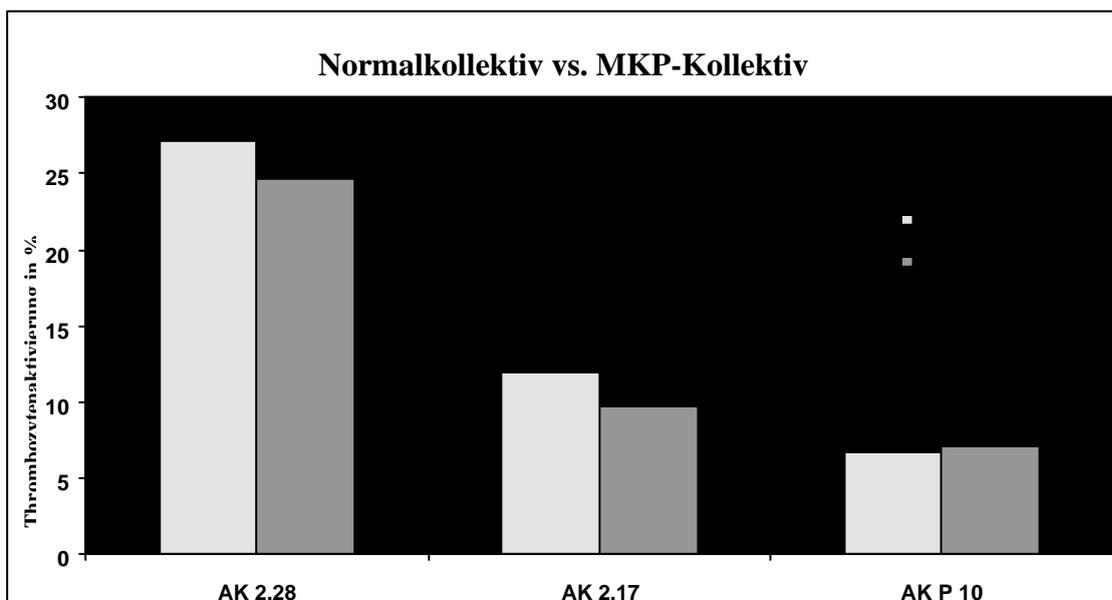


Abbildung : 3.2

Die Thrombozyten der MKP-Patienten sind nicht stärker aktiviert als die Thrombozyten der Normalprobanden.

Damit spiegelt sich der echokardiographisch nachgewiesene Prolaps der Mitralsegel, der auf einer andersartigen Klappenfunktion beruht und zu einer veränderten Hämodynamik führt, nicht in einer - mit der verwendeten Methode meßbaren - Thrombozytenaktivierung wieder.

Die Markierung mit Ak 2.17 zeigt sogar eine geringere Markierung bei Vorliegen eines MKP.

### 3.4.3 Vergleich : Normalkollektiv vs. MKPS-Kollektiv

	<b>Ak 2.28</b>	<b>Ak 2.17</b>	<b>Ak P 10</b>
<b>Normalkollektiv</b>	<b>27,19</b>	<b>11,90</b>	<b>6,77</b>
<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>32,69</b>	<b>10,94</b>	<b>6,94</b>
P-Wert	<b>* 0,0063</b>	0,1197	0,3234

Tabelle : 3.32: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Stellt man die Werte der Thrombozytenaktivierung von Normalkollektiv und MKPS-Kollektiv gegenüber, so zeigt sich eine signifikante Erhöhung der Thrombozyten-aktivierung bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 (27,19 % vs. 32,69 %; P = 0,0063 \*).

Die Markierung mit den beiden anderen Antikörpern ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Kollektiven. Der Antikörper Ak 2.17 zeigt eine geringere Markierung (10,94 % vs. 11,90 %) und der Antikörper Ak P 10 zeigt keinen Unterschied der Antikörper-Antigen-Bindung.

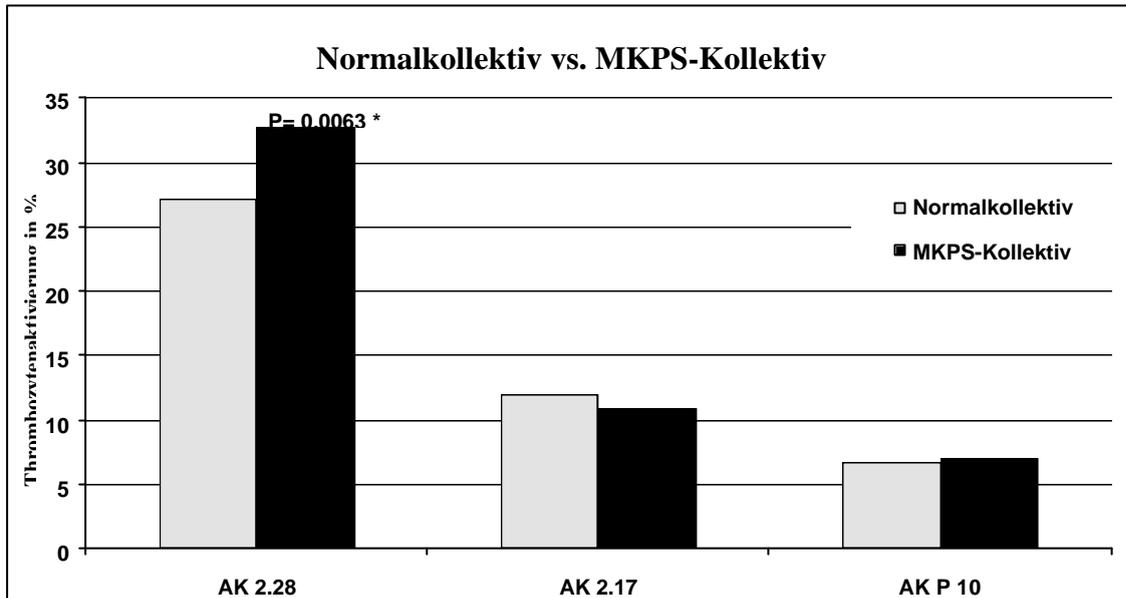


Abbildung : 3.3

Der signifikante Unterschied zwischen den Normalprobanden und den MKPS-Patienten bei der Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 muß ein morphologisches und/oder funktionelles Korrelat haben.

Welcher morphologische, pathologische oder funktionelle Parameter die MKPS-Patienten von den Normalprobanden hinsichtlich der Thrombozytenaktivierung unterscheidet, wird an anderer Stelle diskutiert ( → 1.4.3; → 4. Diskussion).

Die Ergebnisse der durchflußzytometrischen Analyse mit dem Antikörper Ak 2.28 können eventuell einer Trennung zwischen Normalprobanden und MKPS-Patienten dienen.

Definiert man zur weiteren Analyse der Einzelwerte der MKPS-Patienten und des Normalkollektivs Grenzwerte, die beispielsweise bei 30 %, 32,69 % (Durchschnittswert MKPS-Kollektiv) und 35 % liegen könnten (Abb.: 3.4), so kann man für den jeweiligen Grenzwert die Sensitivität, die Spezifität und der positive Vorhersagewert ermitteln.

**Vergleich : Normalkollektiv vs. MKPS II**  
**Einzelwerte der Thrombozytenaktivierung (AK 2.28)**

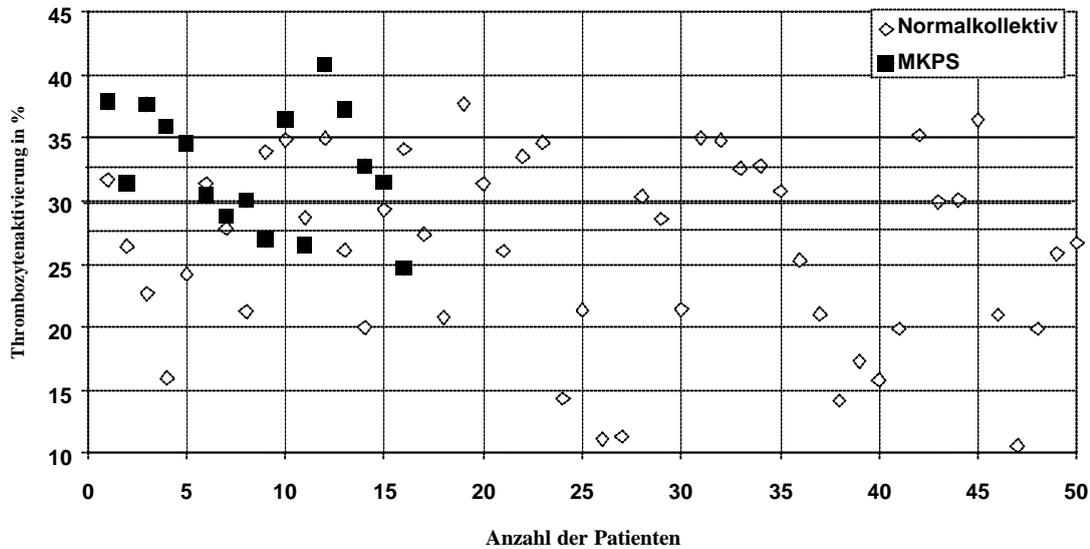


Abbildung 3.4

Der Grenzwert von 30 % ergäbe eine Sensitivität von 69 %, eine Spezifität von 62 % und einen positiven Vorhersagewert von 58 %. Der Grenzwert von 32,69 % (Durchschnittswert MKPS-Kollektiv) würde eine Sensitivität von 50 %, eine Spezifität von 76 % und einen positiven Vorhersagewert von 40 % zeigen. Bei einem Grenzwert von 35 % läge die Sensitivität bei 38 %, die Spezifität bei 92 % und der positive Vorhersagewert bei 60 %.

Nimmt man für das Normalkollektiv einen oberen Grenzwert von 30 % an, so ergibt sich eine Sensitivität von 62 %, eine Spezifität von 69 % und ein positiver Vorhersagewert von 86 %.

Die Verbindung von echokardiographischen und klinischen Befunden mit den Ergebnissen der durchflußzytometrischen Analyse könnte so die Einordnung eines Patienten in die Gruppe der Patienten mit höherem Risiko erlauben.

Da die meisten Patienten mit Komplikationen zudem eine vergleichbare Steigerung der Thrombozytenaktivierung aufwiesen, könnte die Aussagekraft dieses Markers eventuell durch eine weitergehende Untersuchung gestützt und bestätigt werden (→ 4. Diskussion).

### 3.4.4 Vergleich : MKP-Kollektiv vs. MKPS-Kollektiv

	Ak 2.28	Ak 2.17	Ak P 10
<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>24,60</b>	<b>9,78</b>	<b>7,14</b>
<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>32,69</b>	<b>10,94</b>	<b>6,94</b>
P-Wert	<b>* 0,0001</b>	0,3205	0,9340

Tabelle : 3.33: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

Der Vergleich zwischen MKP-Kollektiv und MKPS-Kollektiv zeigt eine hoch signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem monoklonalen Antikörper Ak 2.28 (24,60 % vs. 32,69 %; P = 0,0001 \* ).

Der Antikörper Ak 2.17 zeigt diskret erhöhte Markierungswerte, und der Antikörper Ak P 10 zeigt unbedeutend erniedrigte Markierungswerte.

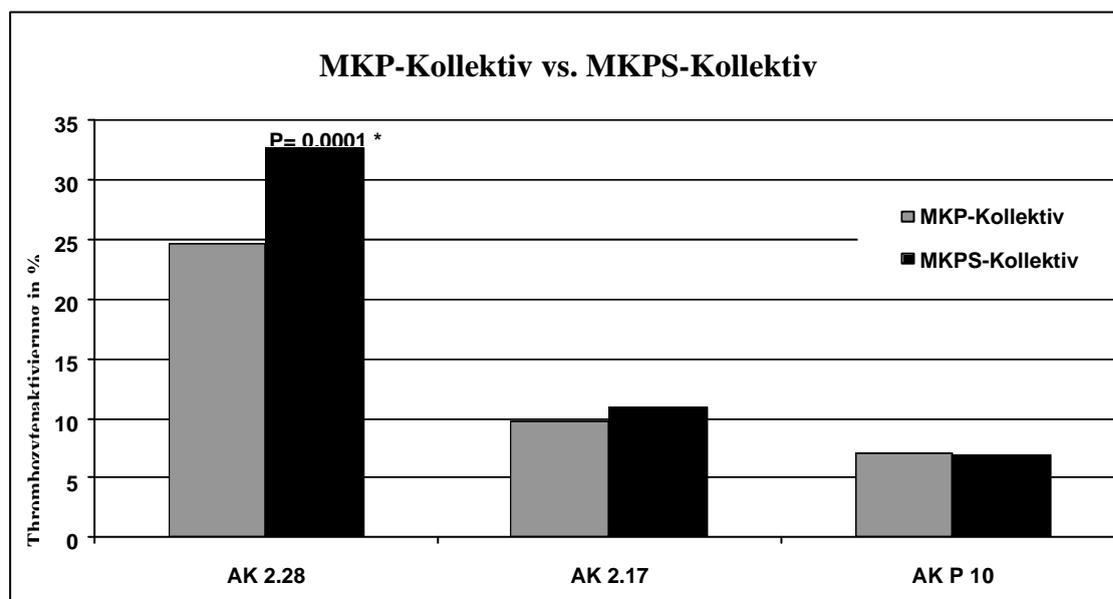


Abbildung : 3.5

Dieses Ergebnis zeigt, dass sich die in der Einleitung beschriebenen echokardiographischen und klinischen Unterschiede zwischen MKP und MKPS teilweise auch in den Ergebnissen der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung (Antikörper Ak 2.28) niederschlagen.

Die signifikant erhöhte Thrombozytenaktivierung (Ak 2.28) bei MKPS-Patienten scheint auf einem pathogenetischen Mechanismus zu beruhen, der unabhängig von den Faktoren, die unter 3.2.7 bis 3.2.9 bzw. 3.3.7 bis 3.3.9 diskutiert wurden, zur Geltung kommt. Außerdem macht sich dieser

Pathomechanismus nur bei den MKPS-Patienten und nicht bei den MKP-Patienten bemerkbar (→ 4. Diskussion).

Von daher scheint durch die Verknüpfung von Echokardiographie und Durchfluß-zytometrie die Identifizierung einer Untergruppe möglich zu sein, die aufgrund einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung vermutlich auch eine gesteigerte thrombo-embolische Komplikationsrate aufweist.

Verbunden mit weiteren klinischen und statistischen Merkmalen kann so eventuell eine kleine Risikogruppe innerhalb der MKP- und vor allem der MKPS-Patienten charakterisiert werden, die aufgrund erhöhter Werte der Thrombozytenaktivierung (Ak 2.28) besonderer Überwachung und eventuell auch Therapie bedarf (→ 4. Diskussion).

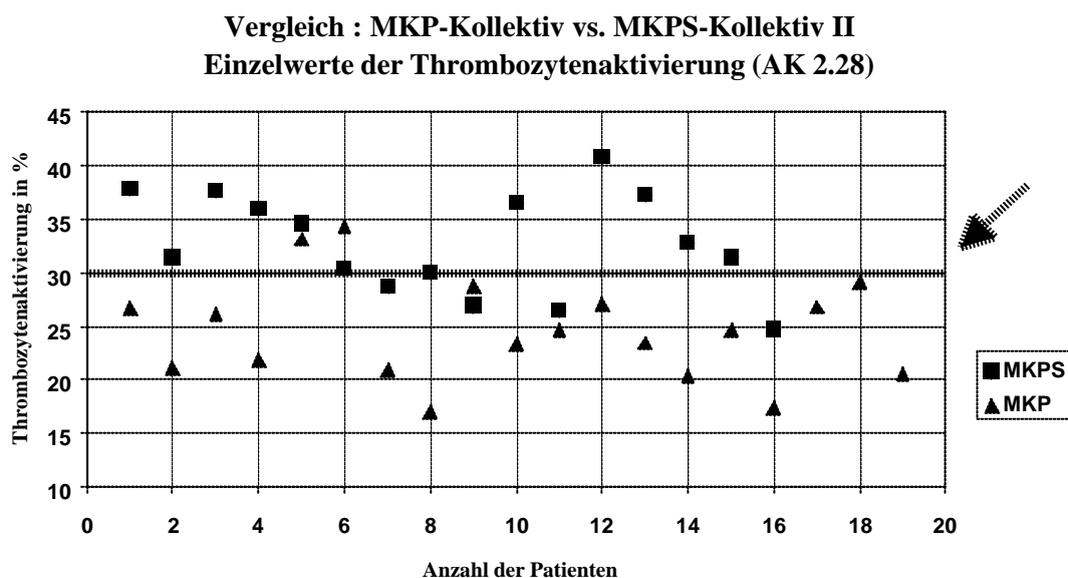


Abbildung : 3.6

Um diese Risikogruppe besser eingrenzen zu können, wurden zunächst alle Einzelwerte der MKP- und MKPS-Patienten, die bei der Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 gewonnen worden waren, in ein Diagramm eingetragen und bei einer Thrombozyten-aktivierung von 30 % eine Trennlinie eingezeichnet (Abb.: 3.6; - -). Dabei zeigte sich, dass sich oberhalb dieser Trennlinie 11 der 16 MKPS-Patienten (69 %), aber nur 2 der 19 MKP-Patienten (11 %) befanden.

Die Analyse dieser Daten (mittels Vierfeldertafel der Bayesschen Formel folgend) ergibt bei einem oberen Grenzwert der Thrombozytenaktivierung von 30 % eine Sensitivität von 69 %, eine Spezifität von 89 % und einen positiven Vorhersagewert von 85 %.

	<b>MKPS</b>	<b>MKP</b>	
$\geq$ 30 % <b>Aktivierung</b>	<b>11</b> (A)	<b>2</b> (B)	<b>85 %</b> <i>positiver Vorhersagewert <math>A / (A+B)</math></i>
$<$ 30 % <b>Aktivierung</b>	<b>5</b> (C)	<b>17</b> (D)	<b>77 %</b> <i>negativer Vorhersagewert <math>D / (D+C)</math></i>
	<b>69 %</b> <i>Sensitivität</i> $A / (A+C)$	<b>89 %</b> <i>Spezifität</i> $D / (D+B)$	

Tabelle: 3.34

In einem weiteren Schritt wurde eine Trennlinie auf Höhe des Durchschnittswertes der Thrombozytenaktivierung (32,69 %) des MKPS-Kollektivs eingezeichnet (Abb.: 3.7;  $\rightarrow$ ).

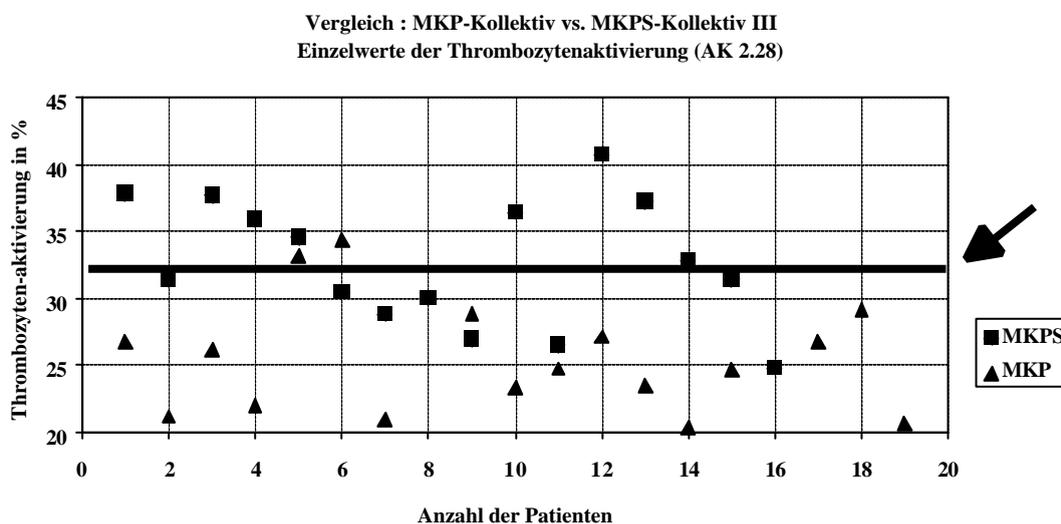


Abbildung : 3.7

Würde man die Trennlinie bei einer Thrombozytenaktivierung von 35 % ziehen (Abb.: 3.8), so lägen immerhin noch 6 der 16 MKPS-Patienten (38 %) und keiner der 19 MKP-Patienten oberhalb dieses Wertes. Analysiert man diese Daten, so ergibt sich eine Sensitivität von 38 %, eine Spezifität von 100 % und ein positiver Vorhersagewert von 100 %.

**Vergleich : MKP-Kollektiv vs. MKPS-Kollektiv IV  
Einzelwerte der Thrombozytenaktivierung (AK 2.28)**

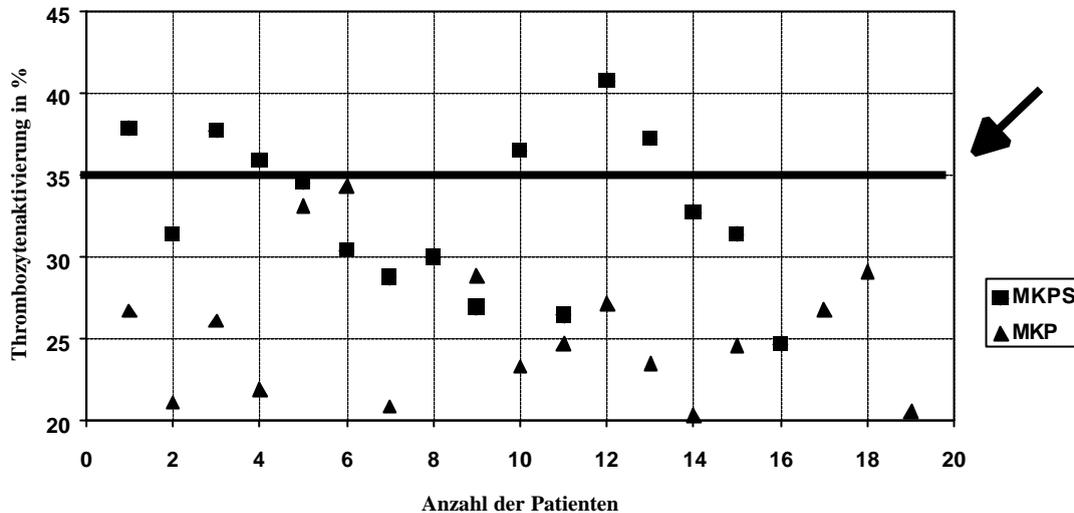


Abbildung : 3.8

Die Patienten oberhalb der 35 %-Grenze zeigten folgende Komplikationen : Eine Patientin (ID 217, 51 Jahre) hatte eine Amaurosis fugax erlitten. Drei weitere MKPS-Patienten (ID 105, 30 Jahre; 202, 24 Jahre; 205, 32 Jahre;) wiesen als einzige Komplikationen Rhythmusstörungen auf. Einer dieser Patienten (ID 105) hatte zudem eine leichte Mitralinsuffizienz.

Bei einem Grenzwert von 27,19 % (Ak 2.28), der dem Durchschnittswert des Normal-kollektives entspricht, ergibt sich beim Vergleich zwischen MKPS-Kollektiv und MKP-Kollektiv sogar eine Sensitivität von 81 % und eine Spezifität von 79 %.

Im Hinblick auf eine mögliche klinische Anwendung der für diese Arbeit verwendeten Methode könnte ein entsprechender Wert der Thrombozytenaktivierung (27,19 %; 30 %; 32,69 %; 35 %) als Grenzwert dienen, der auf eine gesteigerte Thrombozyten-aktivierung und damit auch eine gesteigerte Komplikationsrate hinweist (→ 4. Diskussion).

Bei der weiteren Analyse der durchflußzytometrischen Daten fällt auf, dass Thrombozytenaktivierungswerte unter 24,60 % nur bei den MKP-Patienten ( 9/19; 47 %) vorkamen. Die Sensitivität lag demnach bei 47 %, die Spezifität bei 100 % und der positive Vorhersagewert bei ebenfalls 100 %.



Kollektiven vorhanden waren (z.B. zusätzliche Risikofaktoren und Erkrankungen), die eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung erklären könnten.

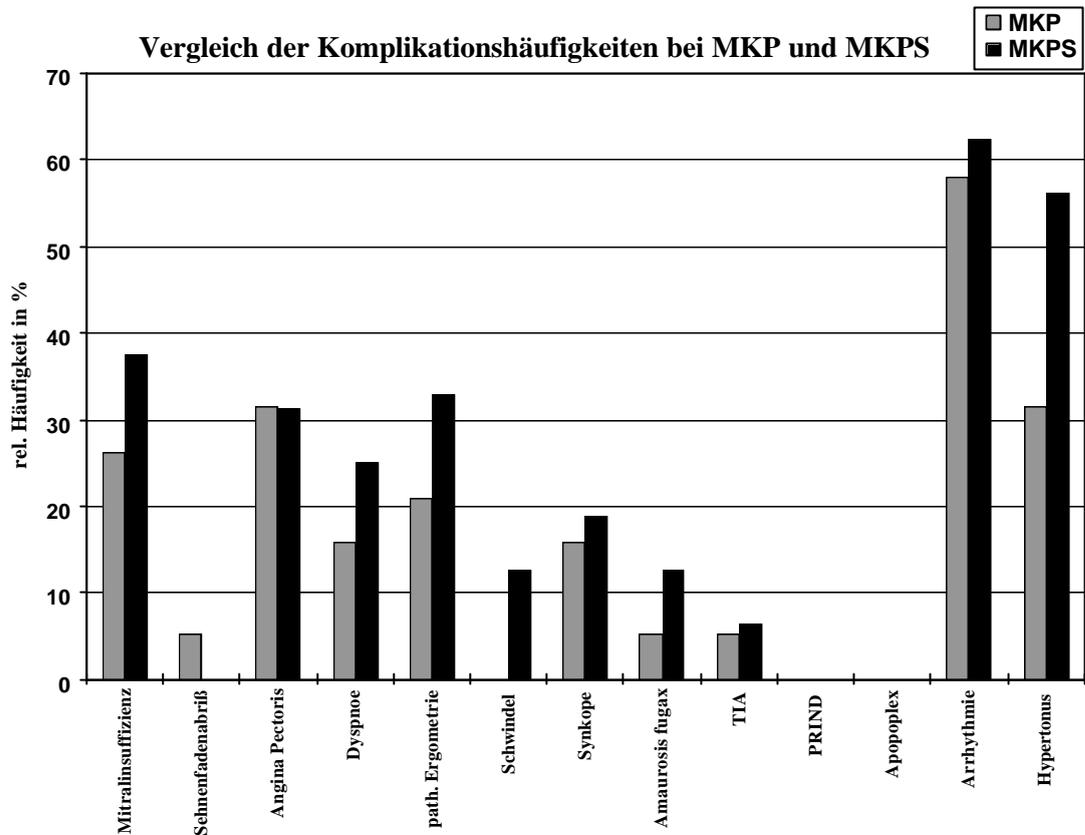


Abbildung 3.10: Symptome und *Komplikationen* bei MKP und MKPS

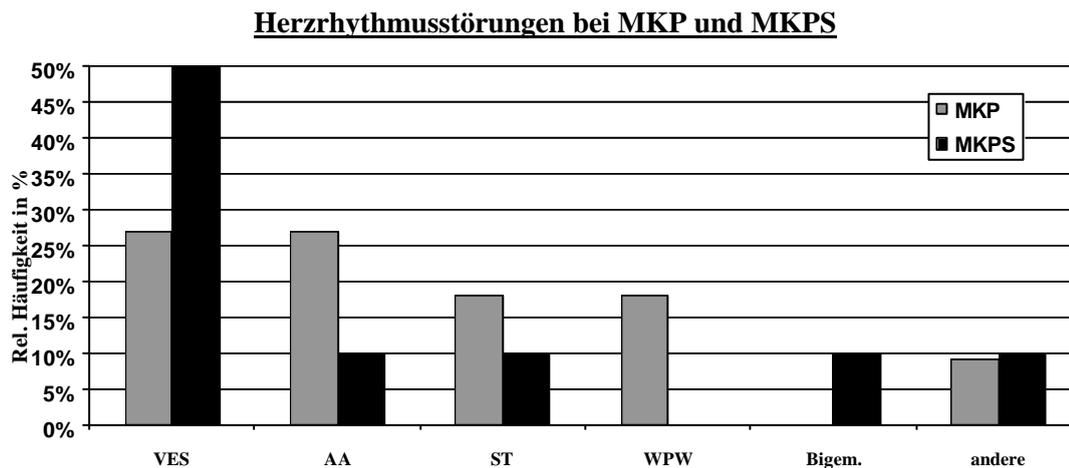


Abbildung 3.11: *Herzrhythmusstörungen* bei MKP und MKPS; Ventrikuläre Extrasystolen (VES), Tachyarrhythmia absoluta bei AF (AA), Sinustachykardie (ST), WPW-Syndrom (WPW), Bigeminus (2:1) (Bigem.), andere Arrhythmien (andere)

### 3.4.5 Abschließender Vergleich aller Kollektive

	Ak 2.28	Ak 2.17	Ak P 10
<b>Normalkollektiv</b>	<b>27,19</b>	<b>11,90</b>	<b>6,77</b>
<b>MKP/MKPS</b>	<b>28,30</b>	<b>10,31</b>	<b>7,05</b>
<b>MKP-Kollektiv</b>	<b>24,60</b>	<b>9,78</b>	<b>7,14</b>
<b>MKPS-Kollektiv</b>	<b>32,69</b>	<b>10,94</b>	<b>6,94</b>

Tabelle 3.35: Thrombozytenaktivierung in Prozent (%)

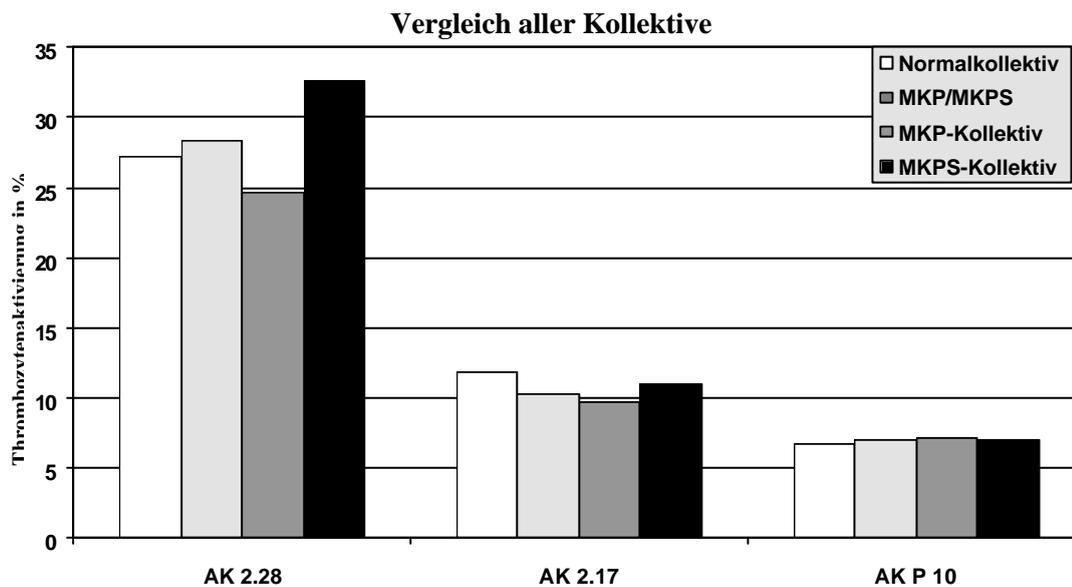


Abbildung : 3.12

Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit den einzelnen Antikörpern nochmals genauer dargestellt werden.

Zunächst wird die Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.28 zusammenfassend dargestellt. Es zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung beim Vergleich des MKPS-Kollektivs mit Normalkollektiv ( $p = 0,0063$ ) und mit dem MKP-

Kollektiv ( $p = 0,0001$  \*). Das zusammengefaßte MKP-/MKPS-Kollektiv und das MKP-Kollektiv zeigten im Vergleich zum Normalkollektiv hinsichtlich des Ak 2.28 keinen statistischen Unterschied ( $\rightarrow$  Abb.: 3.13).

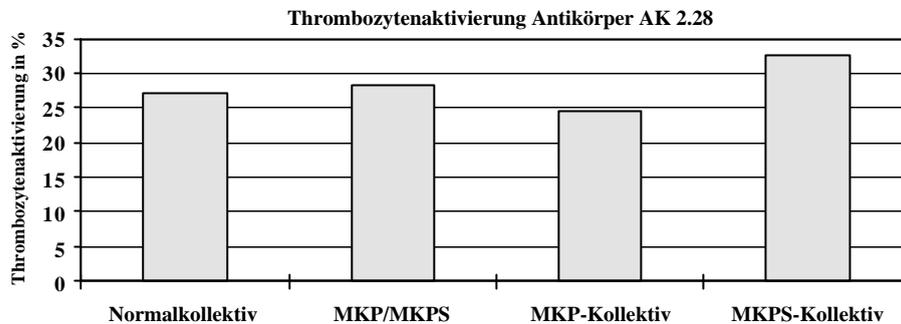


Abbildung : 3.13

Der Vergleich der Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem Antikörper Ak 2.17 zeigte eine im Vergleich zum MKP-/MKPS-Kollektiv und zum MKP-Kollektiv signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung beim Normalkollektiv.

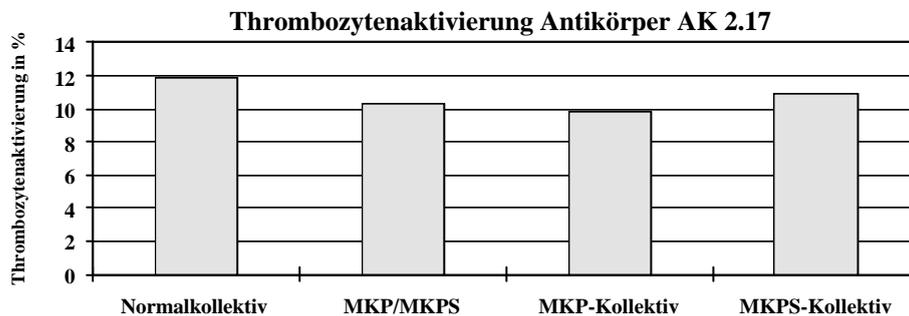


Abbildung : 3.14

Die durchflußzytometrische Analyse mit dem Antikörper Ak P 10 zeigte keinerlei statistische Unterschiede zwischen den Kollektiven.

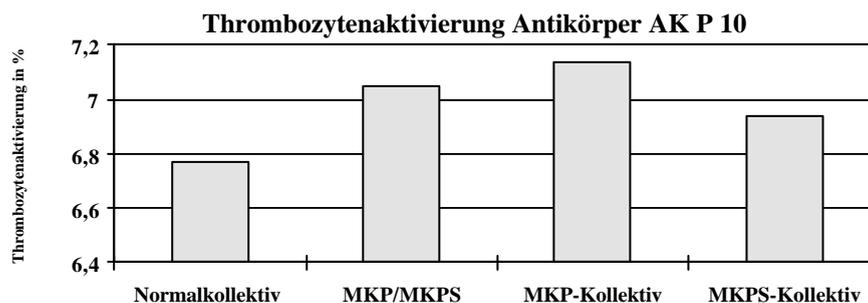


Abbildung : 3.15

Nachdem unter 3.3.7 bis 3.3.9 auf einige Faktoren eingegangen wurde, die in der Literatur als Ursache einer Thrombozytenaktivierung (bei MKPS) diskutiert werden, sollen diese Faktoren nochmals vergleichend beleuchtet werden.

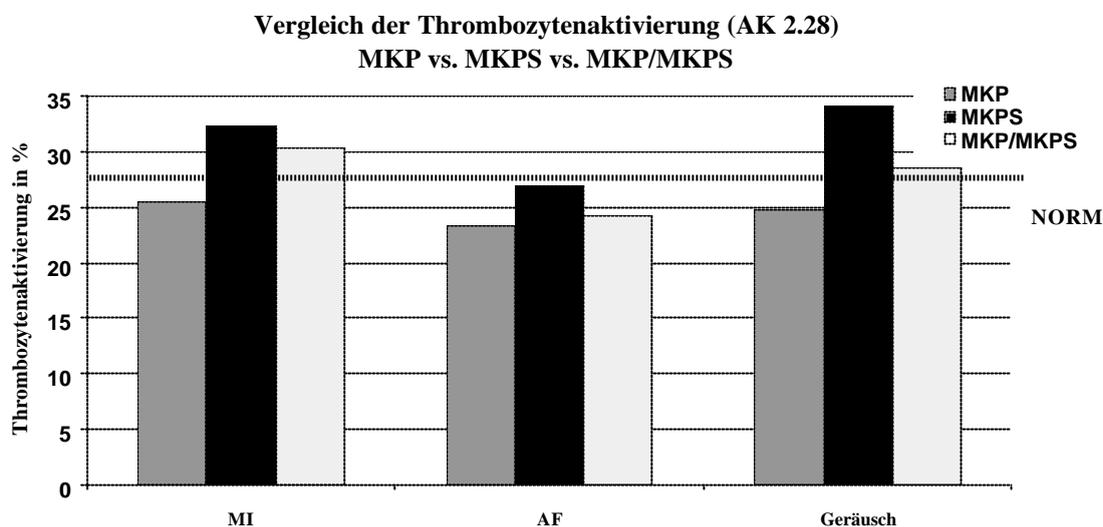


Abbildung : 3.16

Eine eventuelle Mitralsuffizienz oder ein Vorhofflimmern sind nicht die maßgeblich zu einer gesteigerten Aktivierung führenden Parameter, sondern das Vorliegen eines MKPS (eventuell in Verbindung mit diesen anderen Faktoren).

Hinsichtlich der Auskultation zeigte sich bei MKPS-Patienten mit positivem Auskultationsbefund eine signifikant höhere Aktivierung als beim Normalkollektiv.

### ***Thromboembolien***

Thromboembolische Komplikationen waren bei den MKPS-Patienten in der Vorgeschichte häufiger aufgetreten als bei den MKP-Patienten, wobei bei 12,5 % der MKPS-Patienten eine Amaurosis fugax (MKP: 5,2 %) und bei 6,25 % eine TIA (MKP: 5,2 %) aufgetreten war.

Die Analyse der Daten der vorliegenden Arbeit zeigte bei Patienten mit einer Amaurosis fugax unabhängig von ihrer Zugehörigkeit zum MKP- oder MKPS-Kollektiv eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung (Markierung mit Ak 2.28: Ø 35,49 %; n =3).

Aufgrund des großen zeitlichen Abstandes zwischen den thromboembolischen Ereignissen und der Blutentnahme zur Thrombozytenfunktionsanalyse scheint die gezeigte Thrombozytenaktivierung

Ursache des gesteigerten thromboembolischen Risikos und der thromboembolischen Ereignisse zu sein und nicht etwa die Folge des jeweiligen thromboembolischen Ereignisses (→ 4. Diskussion).

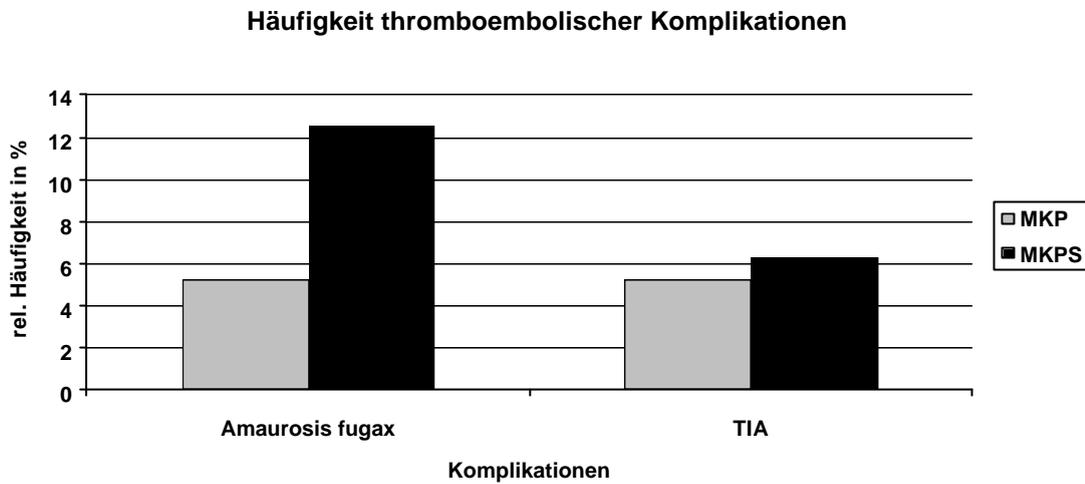


Abbildung: 3.17

In diesem Zusammenhang wäre eine langjährige, vergleichende Beobachtung der Kollektive wünschenswert, die eventuell zeigen könnte, ob bei den bisher komplikationslosen Patienten mit gesteigerten Thrombozytenaktivierungswerten vermehrt thromboembolische Ereignisse auftreten (→ 4. Diskussion).

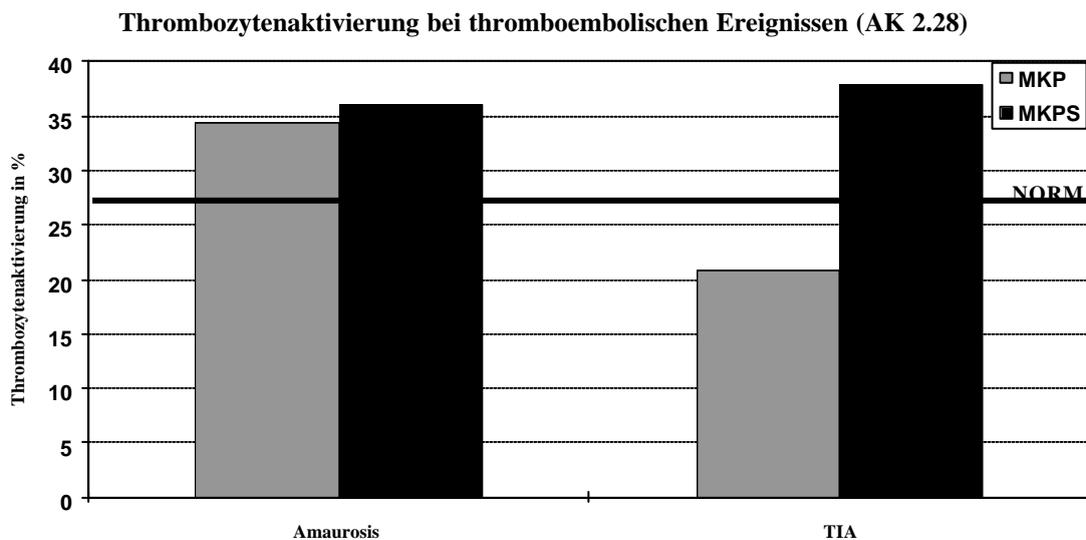


Abbildung : 3.18

## ***4. Diskussion***

Die Identifikation von Patienten mit einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung hat diagnostische, prognostische und therapeutische Bedeutung. Denn durch die Identifizierung und Beurteilung bestimmter Risikopopulationen (z.B. MKPS-Patienten) kann eine gezielte individuelle Therapie bei Patienten mit einem gesteigertem thrombo-embolischen Risiko auf dem Boden einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung eingeleitet werden.

### **4.1 Diagnostische Bedeutung der Ergebnisse**

#### **4.1.1 Vorteile der Durchflußzytometrie bei der Analyse der Thrombozytenfunktion und der Thrombozytenaktivierung**

Obwohl die Thrombozytenaktivierung eine entscheidene Rolle bei der Entstehung von Thromben und Thromboembolien spielt, stehen nur wenige Methoden zur Messung der Thrombozytenaktivierung zur Verfügung.

Darüber hinaus sind einige dieser Methoden nur zur Bestimmung der Thrombozytenaktivierung unter in-vitro-Bedingungen geeignet, so dass für die in-vivo-Diagnostik der Thrombozytenaktivierung vor allem im Hinblick auf einen möglichen Einsatz in der klinischen Routine nur eine sehr begrenzte Anzahl an Methoden zur Verfügung steht [93].

#### **Messung der Plättchenaggregation**

Die Bestimmung der Thrombozytenaktivierung durch Messung der Plättchenaggregation anhand der Veränderung der Lichttransmission einer Plättchensuspension ist nur unter in vitro Bedingungen

möglich [89]. Die Messung der Plättchenaggregation kann zwar zeigen, dass in einer bestimmten klinischen Situation eine Veränderung des Plättchenreaktionsvermögens vorliegt, aber nicht, dass die jeweilige Konstellation direkt und unmittelbar zu einer Thrombozytenaktivierung geführt hat [57, 94]. Zudem ist die Messung der Plättchenaggregation nur semiquantitativ und anfällig für Standardisierungsprobleme [94].

### **Bestimmung von $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG), Plättchenfaktor 4, Thromboxan $A_2$ und löslichem P-selectin**

Die Bestimmung von  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG), Plättchenfaktor 4, Thromboxan  $A_2$  und löslichem P-selectin kann zwar indirekt zum Nachweis einer vermehrten Thrombozytenaktivierung in bestimmten klinischen Situationen dienen, aber der direkte Nachweis eines Zusammenhanges zwischen der jeweiligen Konstellation und dem Plättchenreaktionsvermögens ist nicht möglich [94].

$\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG), ein Sekretionsprodukt der aktivierten Thrombozyten, kann zur Messung der Thrombozytenaktivierung *in vitro* und *in vivo* herangezogen werden, wobei die Aussagekraft der Messung sehr stark von der Probeentnahme und dem vorsichtigen Umgang mit der Probe abhängt, da es *ex vivo* sehr leicht zu einer artifiziellen Thrombozytenaktivierung kommen kann.

Obschon beispielsweise *Metzelaar et al.* [93] bei Patienten mit Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine eine Steigerung der  $\beta$ -TG-Plasmakonzentration von 59 auf 206 ng/ml zeigten, betonen sie dennoch die Schwierigkeiten bei der routinemäßigen Anwendung dieser Methode. Und auch *Blann et al.* [10] weisen darauf hin, dass der  $\beta$ -TG-Spiegel durch Probenzusätze (Antikoagulantien), die unterschiedlichen Präparationsmethoden und durch eine *ex-vivo*-Aktivierung der Thrombozyten stark beeinflusst wird.

Diese methodischen Schwierigkeiten haben den routinemäßigen Einsatz der  $\beta$ -TG-Bestimmung in der Klinik bislang verhindert [94].

Die Messung des  $\beta$ -TG-Spiegels spiegelt zudem die durchschnittliche Antwort der Thrombozyten auf einen Aktivierungsreiz wieder, ohne eine Aussage über Thrombozytensubpopulationen mit einer möglicherweise gesteigerten Thrombozytenaktivierung zu ermöglichen [89, 94].

Bei der Bestimmung von löslichem P-selectin besteht das grundsätzliche methodische Problem, dass die Herkunft des löslichen P-selectin (Thrombozyten und/oder Endothel) letztlich nicht eindeutig unterschieden werden kann und damit die Aussagekraft hinsichtlich der Thrombozytenaktivierung im engeren Sinne deutlich eingeschränkt ist [94].

### **Thrombozytenzahl und Thrombozytenüberlebenszeit**

In einigen Studien finden sich Hinweise auf eine Verminderung der Thrombozytenzahl und auf eine Verkürzung der Thrombozytenüberlebenszeit bei einer vermehrten Thrombozytenaktivierung, so wurden zum Beispiel bei Patienten mit rheumatischer Herzerkrankung signifikant niedrigere Thrombozytenzahlen festgestellt als bei einem Normalkollektiv [75]. Eine verminderte Thrombozytenüberlebenszeit wurde unter anderem bei Patienten mit rheumatischen Herzerkrankungen [75], insbesondere bei Patienten mit Beteiligung der Mitralklappe, und bei Patienten mit MKP [131, 132, 144] nachgewiesen.

Die verminderten Thrombozytenzahlen und die verkürzte Thrombozytenüberlebenszeit bei Patienten mit aktivierten Thrombozyten beruhen vermutlich auf einem vermehrten Abbau aktivierter Thrombozyten und/oder einer vermehrten Komplexbildung der Thrombozyten untereinander und mit anderen Blutzellen (z.B. Leukozyten) [70].

### **Durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenfunktion**

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Durchflußzytometrie eine sensitive und spezifische Methode zur Messung der Thrombozytenaktivierung ist (→ 2.2) [89, 93, 94, 147-156] *Matzdorff et al.* [89] verglichen in einer Studie die Möglichkeiten und Grenzen der Methoden zur Messung der Thrombozytenaktivierung und zeigten, dass  $\beta$ -TG zwar ein sensitiverer Marker der Thrombozytenaktivierung als die durchflußzytometrische Messung der P-selectin-(GMP-140)-

Expression ist, die korrekte Probeentnahme und Probeverarbeitung jedoch sehr schwierig und sehr anfällig für Artefakte sind.

Die  $\beta$ -TG-Sekretion scheint auf die Stimulation mit Thrombin schneller und sensitiver als P-selectin zu reagieren, wobei andere Studien einerseits eine geringere Sensitivität der  $\beta$ -TG-Messung [122, 123] und andererseits eine gute Korrelation zwischen der  $\beta$ -TG-Sekretion und der P-selectin-Expression zeigten [59].

Die Durchflußzytometrie hat den Vorteil, dass diese Technik weniger anfällig für ex-vivo-Artefakte ist und dass auch Thrombozytensubpopulationen charakterisiert werden können.

Die Messung der P-selectin-Expression ist zudem bei geringgradiger Thrombozyten-aktivierung deutlich sensitiver als die Messung mit Hilfe der Plättchenaggregation [89].

Nachteile der Durchflußzytometrie sind die relativ hohen Kosten der Durchführung und der Bereitstellung und die für die klinische Routine relativ komplizierte und anspruchsvolle Probengewinnung und -verarbeitung, wobei die Methodenprotokolle zunehmend vereinfacht werden (z.B. direkte Markierung der Thrombozyten unter Verzicht auf die Herstellung eines PRP; → 2. Methoden).

Außerdem kann die Durchflußzytometrie nur die Funktion bzw. die Aktivierung der zirkulierenden, peripher entnommenen Thrombozyten messen, so dass unter bestimmten Bedingungen das wahre Ausmaß der Thrombozytenaktivierung durch raschen Abbau aktivierter Thrombozyten und die Anlagerung von aktivierten Thrombozyten an andere Blutzellen oder an Endothelzellen nicht meßbar sein kann (→ 4.1.4) [94].

Da die Bestimmung von  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG), Plättchenfaktor 4 und Thromboxan  $A_2$  auch die Thrombozytenaktivierung an den Endothelzellen und die eventuell erst vor kurzer Zeit abgebauten aktivierten Thrombozyten durch ihre Sekretionsprodukte meßbar macht, können diese Verfahren unter bestimmten Bedingungen der Durchflußzytometrie überlegen sein bzw. deren Aussagekraft ergänzen und unterstützen.

So konnte beispielsweise während des Einsatz der Herz-Lungen-Maschine bei herz-chirurgischen Patienten mittels Durchflußzytometrie nur ein geringer Anstieg der Thrombozytenaktivierung nachgewiesen werden, wohingegen die Bestimmung von  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG) und Plättchenfaktor 4 eine deutliche Steigerung der Thrombozytenaktivierung zeigte [93, 94].

*Michelson* [94] geht in seiner Übersichtsarbeit über die durchflußzytometrische Analyse der Plättchenfunktion ausführlich auf die Vorteile der Durchflußzytometrie ein, wobei er insbesondere die Analyse der Plättchenfunktion unter annähernd physiologischen Bedingungen, das relativ geringe Risiko einer in-vitro-Thrombozytenaktivierung bei sachgerechter Handhabung und die Charakterisierung von aktivierten Thrombozyten-subpopulationen (bis zu 1% der Thrombozytenpopulation) hervorhebt.

Zudem weist er darauf hin, dass die Durchflußzytometrie aufgrund des relativ geringen Probevolumens (~ 2 µl) auch bei Patienten mit schwerwiegender Thrombozytopenie und bei Neugeborenen durchgeführt werden kann [94].

Durch die Zugabe des synthetischen Tetrapeptids Glyzyl-L-Prolyl-L-Arginyl-L-Prolin (GPRP) kann darüber hinaus die Thrombozytenaktivierung nach Zugabe des Thrombozytenaktivators Thrombin direkt gemessen werden [94].

*Michelson* [94] sieht einen weiteren entscheidenden Vorteil der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenfunktion in der Möglichkeit, dass neben den in der vorliegenden Arbeit verwendeten und den weiter unten beschriebenen möglichen Zielepitopen (→ 4.1.2.), auch andere in Zukunft noch zu entwickelnde Antikörper, die an Epitope auf der Membran aktivierter Thrombozyten binden, zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik eingesetzt werden könnten, und dass sich die durchflußzytometrische Analyse demnach immer dem aktuellen Standard der Thrombozytenfunktionsdiagnostik anpassen kann.

Die dargestellten Vorteile der Durchflußzytometrie werden in Zukunft voraussichtlich zu einer breiteren klinischen Anwendung dieser Methode führen [59, 94, 156].

#### **4.1.2 Welcher Antikörper spiegelt welche Art der Thrombozyten-aktivierung wieder ?**

Die klinische Relevanz der bei dieser Arbeit verwendeten Antikörper (→ 1.4) wurde bisher nur an einigen ausgewählten Kollektiven [75, 39, 40, 147-156, 164] geprüft und bedarf weiterer Untersuchungen.

##### **Antikörper AK 2.28 (CD 63)**

*Tschöpe et al.* [149, 151] konnten mit dem Antikörper AK 2.28 bei Typ-1-Diabetikern mit thromboembolischen Komplikationen eine im Vergleich zu Typ-1-Diabetikern ohne Komplikationen signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung nachweisen.

Auch bei gesunden Probanden, die mit IDDM-Patienten verwandt sind und bei denen sich vermehrt Inselzell-Antikörper nachweisen ließen, ohne das jedoch ein manifester Diabetes mellitus diagnostiziert werden konnte, fand sich eine signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung. CD 63 war bei diesen Probanden im Vergleich zu einem Normalkollektiv 3,8-fach, CD 62 war 3,2-fach und Thrombospondin war 2,8-fach gesteigert, wobei ein Zusammenhang dieser Thrombozytenaktivierung mit den Entzündungsprozessen und den Mikrozirkulationsstörungen, die zu der Zerstörung der Beta-Zellen des Pankreas führen, anzunehmen ist [156].

Hinsichtlich der CD 63-Expression während der Durchführung einer PTCA finden sich in der Literatur unterschiedliche Ergebnisse. Zwei Studien [70, 150] zeigten bei peripher-venöser

Blutentnahme keine signifikante Änderung der CD 63-Expression im Verlauf einer PTCA, wohingegen eine andere Studie bei Blutentnahme über einen Katheter aus dem Koronarsinus eine signifikant vermehrte Expression von CD 63 nach Angioplastie zeigte [57].

Andererseits konnte gezeigt werden, dass eine durch den Nachweis der CD 63-Expression festgestellte vorbestehende Thrombozytenaktivierung vor einer PTCA mit einem eindeutig gesteigerten Risiko akut-ischämischer Ereignisse während bzw. nach einer PTCA einhergeht [70, 150], so dass das Ausmaß der CD 63-Expression als Prädiktor möglicher thromboembolischer Komplikationen im Rahmen einer PTCA angesehen werden kann.

Andere Untersuchungen zeigten eine gesteigerte Expression von CD 63 bei Patienten mit Chronisch myeloischer Leukämie (CML) und Essentieller Thrombozythämie (ET) [164], beim Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine [72, 93, 122, 123] und bei Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose [92].

Bei Patienten mit Hermansky-Pudlak-Syndrom konnte eine Verminderung von CD 63 auf der Thrombozytenoberfläche festgestellt werden [101] und bei Patienten mit Anti-Phospholipid-Antikörpern konnte keine gesteigerte Expression von CD 63 beobachtet werden [92]. Eine vermehrte Expression von CD 63 scheint einerseits bei Patienten mit chronischen Erkrankungen und langandauernden, kontinuierlichen Aktivierungsreizen und andererseits bei akuten, besonders starken Aktivierungsreizen (z.B. Thrombin) [70, 147-156] aufzutreten.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte eine signifikant gesteigerte Thrombozyten-aktivierung bei MKPS-Patienten sowohl im Vergleich zu einem Normalkollektiv (32,69 % vs. 27,19 %;  $p = 0,0063^*$ ) als auch im Vergleich zum MKP-Kollektiv (32,69 % vs. 24,60 %;  $p = 0,0001$ ) mit Hilfe des Antikörpers AK 2.28 gezeigt werden.

Möglicherweise wird diese gesteigerte CD 63-Expression durch den permanenten Aktivierungsreiz der myxomatös degenerierten Mitralsegel verursacht, wobei es sich hierbei im Vergleich zum Gefäßtrauma um einen eher geringen Aktivierungsreiz handeln dürfte, der jedoch permanent und langandauernd auf das Thrombozytensystem einwirkt und dadurch zu einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung führt (→ 4.1.5)

#### **Antikörper AK 2.17 (CD 62-P, GMP-140, P-selectin, PADGEM)**

In der Literatur wurde unter Zuhilfenahme des AK 2.17 eine signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei Typ-1-Diabetikern mit Komplikationen gezeigt [149], wobei das CD

62 / GMP-140 als Zielepitop des AK 2.17 dabei von besonderem Interesse ist, da es im Rahmen der Pathogenese von Gefäßveränderungen bzw. Gefäßläsionen, die durch molekulare Interaktion von Neutrophilen mit den aktivierten Thrombozyten und dem Endothel verursacht werden, eine entscheidene Rolle spielen soll [115, 117, 149, 156].

Außerdem finden sich in der Literatur Hinweise, dass CD 62 bei Polycythaemia Vera (PV) [164] und bei Patienten mit ARDS [150] vermehrt exprimiert wird.

Mehrere Studien [72, 93, 122, 123] zeigten bei Patienten während und nach Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei Markierung von CD 62 und eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei Markierung von CD 63 und Glykoprotein IIIa.

Auch im Rahmen akut-ischämischer Ereignisse nach PTCA konnte eine signifikante Zunahme der Expression von CD 62 gezeigt werden [57, 70, 150].

*Kolarov et al.* [70] untersuchten die Expression von CD 63, CD 62 und Thrombospondin bei Patienten mit nachgewiesener KHK vor, während und nach elektiver PTCA, wobei Patienten mit instabiler Angina pectoris, akutem Myokardinfarkt, hämatologischen Erkrankungen und Diabetes mellitus ausgeschlossen wurden. Akut-ischämische Ereignisse (TIMI 0-1; TIMI 1-2 innerhalb 24 Stunden) traten bei 3 der 25 Patienten auf, wobei bei diesen 3 Patienten bereits vor Durchführung der PTCA ein aktiviertes Thrombozytensystem diagnostiziert worden war [70].

Dieses Ergebnis deckt sich mit anderen Studien, die für CD 63, P-selectin und Thrombospondin eine gute prädiktive Aussagekraft hinsichtlich des Kurzzeitergebnisses nach PTCA ermittelten [57] und die zeigten, dass Patienten mit einem aktivierten Thrombozytensystem ein doppelt so hohes Risiko akut-ischämischer Ereignisse im Rahmen einer PTCA aufweisen wie Patienten mit nicht-aktiviertem Thrombozytensystem [150].

Der absolute Anstieg der Prozentzahl der marker-positiven Thrombozyten bei den Patienten mit vorbestehender, hochgradiger KHK im Rahmen der PTCA war zwar gering, aber dennoch mit den Ergebnissen der Markeranalyse bei Patienten mit akuten thrombotischen Ereignissen, wie z.B. bei Myokardinfarkt, vergleichbar.

In der Literatur finden sich in diesem Zusammenhang Hinweise, dass unter Umständen auch ein nur geringer Anstieg der Prozentzahl der zirkulierenden marker-positiven Thrombozyten als Zeichen

eines aktivierten Hämostasesystems zu werten ist, da der Anstieg der marker-positiven Thrombozyten einem Ungleichgewicht zwischen dem Abbau von aktivierten Thrombozyten im retikuloendotheliale System und einer andauernden Aktivierung durch einen lokalen Aktivierungsreiz entsprechen kann („prethrombotic situation“; → 4.1.4) [70].

Für den relativ geringen Anstieg aktivierter Thrombozyten in bestimmten klinischen Situationen, die bekanntermaßen mit einer Thrombozytenaktivierung einhergehen, werden die Eliminierung aktivierter Thrombozyten im Bereich der Mikrozirkulation, die Bildung von Thrombozyten-Leukozyten-Komplexen (P-selectin-Shedding) [117, 156] und die Umverteilung des P-selectin der Thrombozytenoberfläche als lösliches P-selectin in das Blutplasma diskutiert [10, 94, 95].

Diese Eliminierungsvorgänge erklären die von *Kolarov et al.* [70] während PTCA beobachtete Verminderung der Thrombozytenzahl bei Patienten mit aktiviertem Thrombozytensystem. Auch andere Studien [75] berichten über eine derartige Verminderung von aktivierten Thrombozyten, die sich neben einer Verminderung der Thrombozytenzahl auch durch einen verminderten durchflußzytometrischen Nachweis aktivierter Thrombozyten trotz anhaltendem Aktivierungsreiz auszeichnet, wobei diese Verminderung als Hinweis auf einen Verbrauch aktivierter Thrombozyten angesehen wird [70, 156].

Bei Patienten, deren Thrombozytensystem vor einer PTCA nicht aktiviert war, konnte keine Verminderung der Thrombozytenzahl und keine Verminderung der aktivierten Thrombozyten festgestellt werden [70].

Die Thrombogenität der Plättchen verstärkt sich auch bei einer nur geringen Anzahl aktivierter Plättchen durch eine fortschreitende Aggregation der Thrombozyten mit anderen Blutzellen, wie zum Beispiel Granulozyten und Monozyten, wobei diese Zell-Zell-Komplexe ihrerseits durch Abgabe von Mediatoren (Sauerstoffradikale, Bindegewebefaktoren) zu einer weitergehenden Thrombozytenaktivierung führen [70, 117].

*Chignier et al.* [20] zeigten tierexperimentell, dass CD 62 ein verlässlicher und schnell ansprechender Marker für die Aktivierung von Thrombozyten nach schwerem Gefäßtrauma ist.

Sie weisen in diesem Zusammenhang darauf hin, dass verschiedene klinische Situationen bzw. Konstellationen vermutlich zu einer unterschiedlichen aber dennoch für die jeweilige Konstellation typischen Thrombozytenaktivierung mit einer charakteristischen Expression von Aktivierungsmarkern führen.

Von daher können anscheinend widersprüchliche Studienergebnisse bei der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung mittels monoklonaler Antikörper als jeweils spezifische Antwort der Thrombozyten auf einen jeweils speziellen Aktivierungsreiz angesehen werden, und sollten dementsprechend differenzierter interpretiert werden.

Um den jeweiligen Aktivierungsreiz bzw. die pathophysiologische Grundlage der Thrombozytenaktivierung jedoch weiter eingrenzen zu können, sind weitere klinische Studien an unterschiedlichen Patientenkollektiven mit unterschiedlichen Aktivierungsreizen nötig [20].

*Michelson et al.* [95] untersuchten die zeitliche Dauer der Expression von P-selectin auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten und kamen zu dem Ergebnis, dass ungefähr 95 % des P-selectins auf den Oberflächen der aktivierten Thrombozyten innerhalb von maximal zwei Stunden nach Aktivierung nicht mehr nachweisbar ist, und dass es gleichzeitig umgekehrt proportional zu einem Anstieg des löslichen P-selectins im Plasma kommt, wobei die Plasmakonzentration des löslichen P-selectins rechnerisch ungefähr 94 % des P-selectins der Thrombozytenoberfläche entspricht.

Die Zeitspanne, in der andere aktivierungsabhängige Marker in vivo auf der Thrombozyten-membran exprimiert werden, konnte noch nicht bestimmt werden [95].

Ungeachtet des Verlustes des P-selectins auf der Thrombozytenoberfläche, der als eine Art Umverteilungsprozeß des P-selectins von der Thrombozytenoberfläche in das Blutplasma interpretiert wird, verbleiben die aktivierten Thrombozyten in der Zirkulation und zeigen keinerlei Funktionseinschränkungen.

Obwohl die Aussagekraft des Thrombozytenaktivierungsmarkers P-selectin durch diese Ergebnisse relativiert wird, sehen *Michelson et al.* [95] P-selectin trotzdem als nützlichen Marker der Thrombozytenaktivierung, wenn die Probenentnahme in unmittelbarer Nähe des Aktivierungsortes (z.B. mittels Katheder in den Koronarien) vorgenommen wird und/oder die Probeentnahme in unmittelbarem zeitlichen Zusammenhang (maximal 5 Minuten) zur Thrombozytenaktivierung erfolgt.

Die Markierung von CD 62 mit dem Antikörper AK 2.17 zeigte in der vorliegenden Arbeit keinen signifikanter Unterschied zwischen dem MKPS-Kollektiv und dem MKP-Kollektiv (9,78 % vs. 10,94 %), wobei der verminderte Nachweis der CD 62-Expression bei gleichzeitigem signifikant

vermehrten Nachweis der CD 63-Expression bei den MKPS-Patienten auf einen durch eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei MKPS verursachten Verbrauch aktivierter Thrombozyten bzw. auf ein P-selectin-Shedding (Bildung von Thrombozyten-Leukozyten-Komplexen) hinweisen könnte [70, 150, 156].

Diese Beobachtungen decken sich einer anderen Studie, bei der MKP-Patienten mit schwerer Mitralinsuffizienz eine signifikant niedrigere P-selectin Expression als MKP-Patienten ohne oder mit leichter Mitralinsuffizienz zeigten [88].

Die signifikant verminderte Expression von P-selectin bei MKP-Patienten mit schwerer Mitralinsuffizienz beruht vermutlich auf einer durch eine chronische Aktivierung verursachter Desensibilisierung oder Erschöpfung der Thrombozyten oder auf einem durch die chronische Aktivierung verursachten gesteigerten Thrombozytenumsatz und -abbau [88].

### **Antikörper AK P 10 (Thrombospondin)**

In der Literatur wurde eine erhöhte Expression von Thrombospondin bei Patienten mit länger bestehendem Diabetes mellitus (IDDM) ohne diabetische Mikroangiopathie und bei Inselzell-Antikörper-positiven Verwandten von Patienten mit Diabetes mellitus (2,8-fache Erhöhung gegenüber der Norm) [157] gezeigt, wobei Thrombospondin vermutlich vor allem eine andauernde Thrombozytenaktivierung anzeigt [117].

Aber auch im Rahmen akut-ischämischer Ereignisse nach PTCA konnte eine signifikante Vermehrung der Thrombospondin-Expression gezeigt werden [70, 150].

Bei Patienten mit Multiorganversagen (MOF) im Rahmen eines septischen Geschehens konnte ebenfalls eine signifikant gesteigerte Expression von Thrombospondin auf den Thrombozyten nachgewiesen werden [40]

In der vorliegenden Arbeit zeigte die Markierung von Thrombospondin mit dem Antikörper AK P 10 keinen signifikanten Unterschied zwischen MKPS-Patienten und MKP-Patienten, und auch bei

dem Vergleich zwischen allen anderen Kollektiven konnten keine signifikante Unterschiede der Thrombozytenaktivierung nachgewiesen werden.

Die gesteigerte Expression von Thrombospondin bei Patienten mit IDDM bzw. mit positivem Nachweis von Inselzell-Antikörpern und bei Multiorganversagen im Rahmen eines septischen Geschehens könnte auf einer durch Immunprozesse hervorgerufenen Thrombozytenaktivierung beruhen [40, 150] und wäre demnach bei MKPS-Patienten, bei denen Entzündungsprozesse bei der Entstehung einer gesteigerten Thrombozyten-aktivierung keine Bedeutung haben dürften, nicht zu erwarten.

#### **4.1.3 Zusammenhang zwischen jeweiliger klinischer Situation und der Expression spezifischer Oberflächenepitope der Thrombozyten**

Bei Betrachtung der unterschiedlichen Studienergebnisse (→ 4.1.2) und der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit muß zusammenfassend davon ausgegangen werden, dass die jeweilige klinische Konstellation zu einer jeweils typischen Expression der einzelnen Plättchenmembranglykoproteine und somit zu einem jeweils typischen Muster der Thrombozytenaktivierung führt.

<b>Klinische Situation</b>	<b>CD 63</b>	<b>CD 62</b>	<b>TSP</b>
<b>Koronare Herzkrankheit</b>	( - )	-	-
<b>PTCA</b>	( - )	- -	- -

<b>Einsatz der Herz-Lungenmaschine</b>	-	-	(-)
<b>Myokardinfarkt</b>	- -	-	×
<b>ARDS</b>	×	-	-
<b>Generalisierte Artherosklerose</b>	- -	( $\bar{\text{~}}$ )	×
<b>Hämodialyse / Plasmapharese</b>	×	-	×
<b>Sepsis mit MOF</b>	-	-	-
<b>Morbus Crohn</b>	- (-)	- (-)	-
<b>Diabetes Typ I</b>	- (-)	- (-)	- (-)
<b>Diabetes Typ II</b>	-	-	-
<b>Präeklampsie</b>	-	×	×

Tabelle 4.1 : Profile der Thrombozytenaktivierung in ausgewählten klinischen Situationen;

[modifiziert nach 158] ↑: erhöht; ↓: erniedrigt; ↔: unverändert ×: nicht untersucht

Die durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit MKP und MKPS zeigt folgendes Ergebnisse :

<b>Klinische Situation</b>	<b>CD 63</b>	<b>CD 62</b>	<b>TSP</b>
<b>MKP</b>	«	«	«
<b>MKPS</b>	-	« *	«

Tabelle 4.2 : Profile der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit MKP und MKPS

↑: erhöht; ↓: erniedrigt; ↔: unverändert ×: nicht untersucht

Die unveränderte Expression von CD 62 bei Patienten mit MKPS (siehe Tabelle 4.2: \*) kann bei gleichzeitigem Vorliegen einer signifikant vermehrten Expression von CD 63 dennoch als Hinweis auf eine Thrombozytenaktivierung angesehen werden, da es durch das sog. Shedding der Thrombozyten

(Thrombozyten-Leukozyten-Komplexe), durch die Umverteilung von Membranproteinen und durch einem gesteigerten Abbau aktivierter Thrombozyten zu einer verminderten Nachweisbarkeit von CD 62-Epitopen kommt und die Ergebnisse der durchflußzytometrischen Analyse nicht das tatsächlich vorhandene Ausmaß der Thrombozytenaktivierung widerspiegeln (→ 4.1.2) .

Die MKPS-Patienten zeigen ein ähnliches Aktivierungsprofil wie Patienten mit generalisierter Atherosklerose, wobei übereinstimmend die CD 63-Expression gesteigert ist und sich die CD 62-Expression und die TSP-Expression im Normbereich oder darunter befindet.

Möglicherweise tritt dieses Aktivierungsprofil bei einer chronischen Thrombozyten-aktivierung, die sie sowohl bei Vorliegen eines MKPS als auch bei einer generalisierten Artherosklerose zu erwarten ist, auf, wobei die durchflußzytometrische Analyse einerseits eine gesteigerten CD 63-Expression und andererseits eine Verminderung von CD 62-positiven Thrombozyten zeigt.

Diese bei chronischer Thrombozytenaktivierung beobachtete verminderte Nachweisbarkeit von CD 62-positiven Thrombozyten wird vermutlich durch den Abbau aktivierter Thrombozyten und durch die Bildung von Thrombozyten-Leukozyten-Aggregaten (P-selectin-Shedding) verursacht.

Die Thrombozytenzahlen des MKPS-Kollektivs ( $\bar{x}$ : 246.000/ $\mu$ l) waren niedriger als beim MKP-Kollektiv ( $\bar{x}$ : 251.600/ $\mu$ l), wobei dieser Unterschied statistisch nicht signifikant war.

Andere Studien zeigten, dass bei mittels Durchflußzytometrie nachgewiesener signifikanter Thrombozytenaktivierung meist auch eine signifikante Verminderung der Thrombozytenzahl zu beobachten ist [70, 75, 117].

Bei einer akuten Thrombozytenaktivierung, die bei Myokardinfarkt, Gefäßläsionen im Rahmen einer PTCA und bei bestimmten Entzündungsvorgängen (M. Crohn, Zerstörung von Inselzellen bei IDDM-Diabetes [156]) vorliegen dürfte, wurde ein anderes Aktivierungsprofil nachgewiesen, das sich durch gesteigerte Expression sowohl von CD 63 als auch von CD 62 und TSP auszeichnet.

Die vermehrte Expression von CD 62 ist dabei vermutlich nur in unmittelbarer zeitlicher Nähe zum initialen Aktivierungsereignis und bei einem besonders ausgeprägten Aktivierungsreiz nachweisbar.

So fanden sich beispielsweise bei der durchflußzytometrischen Analyse von zwei Vergleichs-Patienten mit höhergradiger Mitralinsuffizienz (Grad III-IV), die zum operativen Ersatz der Mitralklappe vorgesehen waren, eine gesteigerte Expression von CD 63 und eine erheblich gesteigerte Expression von P-selectin (→ 3.3.7).

Thrombozytenaktivierung	CD 63	CD 62	TSP
akut	- (-)	- (-)	-
chronisch	- (-)	« -	«

Tabelle 4.3 : Aktivierungsprofile bei akuter und chronischer Thrombozytenaktivierung

↑: erhöht; ↓: erniedrigt; ↔: unverändert ×: nicht untersucht

Vermutlich führen unterschiedliche (Patho-)Mechanismen (Hämodynamik, Entzündung, Endothelläsion) jeweils zu einem typischen Aktivierungsprofil der Thrombozyten, das sich durch eine charakteristische Oberflächenantigenität und damit Markierbarkeit durch monoklonale Antikörper auszeichnet.

Die durchflußzytometrische Analyse mittels monoklonaler Antikörper ergibt demnach ein für die jeweilige pathologische Konstellation typisches Thrombozyten-aktivierungsprofil, wobei die zur Verfügung stehenden Antikörper für die jeweilige Fragestellung gezielt eingesetzt werden müssen und das unterschiedliche Markierungsprofil der Antikörper jeweils entsprechend interpretiert werden muß.

*Metzelaar et al.* [93] zeigten in diesem Zusammenhang, dass die Plättchenmembran-glykoproteine Ib und IIIa, CD 31 (PECAM-1), CD 62 (GMP-140), GMP-33 und CD 63 nach Thrombinstimulation und durch die Lagerung als Plättchenkonzentrate parallel, d.h. alle Antigene in einem gleichbleibenden Verhältnis zueinander, auf der Plättchenmembran exprimiert werden, wohingegen unter in-vivo-Bedingungen bei Patienten während Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine einige Glykoproteine besonders stark auf der Oberfläche exprimiert werden.

Als Erklärung für diese Beobachtungen führen *Metzelaar et al.* [93] neben unterschiedlichen Mechanismen und Bedingungen der Thrombozytenaktivierung (in-vitro bzw. in-vivo) auch eine unterschiedliche Überlebenszeit der jeweiligen Oberflächenantigene an.

So ist es durchaus denkbar, dass unter in-vivo-Bedingungen durch den Scherstreß der Thrombozyten andere Oberflächenantigene bzw. eine andere Oberflächenantigen-konstellation zu beobachten sind, als unter in-vitro-Bedingungen [93].

Zudem entsprechen die zu markierenden Oberflächenantigene unterschiedlichen Stufen des Aktivierungsprozesses der Thrombozyten, wobei diese Aktivierungsstufen bei bestimmten klinischen

Konstellationen unterschiedlich schnell und ausgeprägt erreicht werden, und somit bestimmte Oberflächenantigene in einem jeweils charakteristischem Ausmaß exprimiert werden.

*Michelson* [94] beschreibt in einer Übersichtsarbeit neben den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Antikörpern, die an die Epitope CD 63, CD 62 und Thrombospondin binden, noch eine Vielzahl weiterer monoklonaler Antikörper, die an zusätzliche Thrombozytenoberflächenepitope binden, wie zum Beispiel den sich bei Aktivierung verändernden GP IIb-IIIa-Komplex (Antikörper PAC1, PM 1.1, LIBS1, LIPS6, 2G5, 9F9, F26), das lysosomale LAMP-1 (Antikörper H5G11), das Multimerin (Antikörper JS-1) und die Faktor-Va- und Faktor-VII-Bindungsstellen (Antikörper V237, 1B3).

Zudem führt *Michelson* zur Bestimmung der Thrombozytenaktivierung noch das Membranglykoprotein CD 36 (GPIV), das bei ruhenden und verstärkt bei aktivierten Thrombozyten exprimiert wird, und den GP Ib-IX-V-Komplex, der als Rezeptor für den von-Willebrand-Faktor bei Gefäßverletzungen dient und bei Thrombozytenaktivierung eine verminderte Expression auf der Thrombozytenmembran zeigt, als weitere Zielepitope der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenfunktion an.

Erst durch eine Vielzahl weiterer durchflußzytometrischer Studien wird sich herausstellen, welches Antigenprofil durch welche Antikörper so charakterisiert werden kann, dass sich für bestimmte klinische Situationen eine reproduzierbare Aussage hinsichtlich der Thrombozytenaktivierung und des Risikos thromboembolischer Komplikationen treffen läßt.

#### **4.1.4 Bedeutung der lokalen und der peripheren Thrombozytenaktivierung**

Bei der Interpretation der Ergebnisse der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung muß bedacht werden, dass es Unterschiede zwischen der im peripheren venös entnommenen Blut festzustellenden Thrombozytenaktivierung und der lokal am Ort der Thrombozytenaktivierung meßbaren Thrombozytenaktivierung gibt.

### **Lokale Thrombozytenaktivierung**

Die lokale Thrombozytenaktivierung findet durch die Interaktion von Thrombozyten, plasmatischen Faktoren und dem geschädigten Endothel, zum Beispiel an der Mitralklappe bei Mitralsuffizienz und MKPS oder in einem Gefäßabschnitt der im Rahmen einer PTCA traumatisiert wurde, statt (→ 1.5).

Diese lokale Thrombozytenaktivierung führt zum Auftreten von im Blut zirkulierenden aktivierten Thrombozyten, die eine veränderte Antigenstruktur aufweisen (u.a. CD 63, CD 62, Thrombospondin).

### **Verbrauch von aktivierten Thrombozyten in der Zirkulation**

Je nach Ausmaß der lokalen Schädigung kann durch die durchflußzytometrische Analyse des peripher-venös entnommenen Blutes keine oder nur eine leichte Thrombozytenaktivierung festgestellt werden, da ein Teil der Thrombozyten durch „Mikrothrombosen“ in der (Mikro-) Zirkulation oder durch Zusammenlagerung mit Leukozyten verbraucht wird (v.a. CD 62-positive Thrombozyten).

Durch den Verbrauch von aktivierten Thrombozyten kommt es zu einer Verkürzung der Thrombozytenüberlebenszeit [131, 132] und zu einer Abnahme der Thrombozytenzahl [70, 75], wobei die durchflußzytometrische Analyse mittels monoklonaler Antikörper (v.a. Antikörper 2.17 / CD 62) bei den betroffenen Kollektiven mit akuten und stark ausgeprägten Thrombozytenaktivierungsreizen (z.B. bei schweren Gefäßtraumen) durch den Verbrauch der aktivierten Thrombozyten zumeist eine gegenüber dem Normalkollektiv unveränderte oder sogar verminderte Thrombozytenaktivierung zeigt [115, 116].

So konnte beispielsweise während Ballondilatation im Rahmen einer PTCA keine gesteigerte peripher-venöse Thrombozytenaktivierung festgestellt werden, da die lokal aktivierten Thrombozyten durch verkürzte Lebenszeit oder durch Verdünnungseffekte und Abbau in der Zirkulation peripher-venös unter Umständen nicht mehr meßbar sind [70].

Bei Messung der Thrombozytenaktivierung über einen in den Koronarsinus liegenden Katheder konnte hingegen eine signifikant vermehrte lokale Thrombozytenaktivierung (Expression von CD 62 und CD 63) nachgewiesen werden, wobei sich bei Entnahme aus der Aorta keine Veränderungen der Oberflächenantigenität der Thrombozyten zeigten [40, 57, 131, 132, 133].

Im Rahmen eines septischen Geschehens konnte bei den betroffenen Patienten sowohl eine vermehrte Expression von Thrombozytenaktivierungsmarkern als auch ein vermehrtes Auftreten von Thrombozyten-Leukozyten-Aggregaten nachgewiesen werden, wohingegen bei Patienten mit einem Multiorganversagen im Rahmen des septischen Geschehens eine Verminderung der Thrombozyten-Leukozyten-Aggregate - vermutlich auf Grund einer Sequestration in der Mikrozirkulation - beobachtet wurde [40].

### **Thrombozytenaktivierung übersteigt Thrombozytenverbrauch**

#### **® Periphere Thrombozytenaktivierung**

Bei einer fortbestehenden und starken Endothelschädigung, die mit einer erheblichen lokalen Thrombozytenaktivierung einhergeht, übersteigt die lokale Thrombozytenaktivierung den Thrombozytenverbrauch in der Zirkulation, so dass die durchflußzytometrische Analyse des peripher-venös entnommenen Blutes eine vermehrte Thrombozytenaktivierung zeigt.

<b>Thrombozytenaktivierung</b>	<b>CD 63</b>	<b>CD 62</b>	<b>TSP</b>
<b>lokal</b>	- (-)	- (-)	-
<b>peripher-venös (Aktivierung &amp; Verbrauch)</b>	- (-)	« - -	«
<b>peripher-venös (Aktivierung <sup>3</sup> Verbrauch)</b>	- (-)	- (-)	« - -

Tabelle 4.4 : Aktivierungsprofile der lokalen und peripher-venösen Thrombozytenaktivierung

↑: erhöht; ↓: erniedrigt; ↔: unverändert ×: nicht untersucht

So wurde beispielsweise zwei Stunden nach Ballondilatation im Rahmen einer PTCA eine signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung gefunden, die mit durch die bei der Ballondilatation

verursachten Gefäßverletzungen und den daraus resultierenden Aktivierungsvorgängen erklärt werden kann [70]. Diese signifikante Zunahme der Thrombozytenaktivierung konnte durch die bei der PTCA verwendeten Medikamente (Heparin und high-dose Acetylsalicylsäure) nicht verhindert werden [70].

### **Akutes Ereignis (Thrombose/Embolie)**

Durch das Ungleichgewicht zwischen Thrombozytenaktivierung und Thrombozyten-verbrauch, zum Beispiel bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und Sepsis, wird das System instabil und es kommt zu (fulminanten) thromboembolischen Komplikationen, wie zum Beispiel zu einem akutem Myokardinfarkt nach Aufbruch eines Gefäßplaques, einem Multiorganversagen durch DIC und zu venöse Thrombosen [40, 117].

Bei diesen thromboembolischer Ereignissen kommt es zu einem weiteren Verbrauch aktivierter Thrombozyten und einer Verminderung der Thrombozytenzahl [131, 132].

Angesichts des Unterschiedes zwischen der lokalen und der peripheren Thrombozyten-aktivierung stellt sich die Frage, inwieweit die durchflußzytometrische Analyse mittels monoklonaler Antikörper bei peripher-venöser Blutentnahme verlässliche Aussagen über die tatsächliche Thrombozytenaktivierung und den Status des Thrombozytensystems erlaubt [110].

Eine Aussage über den Aktivierungsstatus des Thrombozytensystems ist bei peripher-venöser Blutentnahme nur möglich, wenn die lokale Thrombozytenaktivierung den Verbrauch aktivierter Thrombozyten in der (Mikro-) Zirkulation übersteigt und somit vermehrt aktivierte Thrombozyten in der peripher-venösen Zirkulation auftreten.

Bei geringer lokaler Thrombozytenaktivierung bzw. bei verstärktem Abbau aktivierter Thrombozyten ist der durchflußzytometrische Nachweis einer vermehrte Thrombozyten-aktivierung bei peripher-venöser Blutentnahme unter Umständen nicht oder nur mit eingeschränkter Aussagekraft möglich [94].

Andererseits ist es schwer vorstellbar, dass Abnahmetechniken, die eine Blutentnahme am Ort der lokalen Aktivierung (z.B. in den Koronarien nach Ballondilatation) ermöglichen, in der klinischen Routine zur Anwendung kommen werden, zumal es während einer Blutentnahme aus den Koronarien

mittels eines Katheters durch Verlängerung der Transmissionsstrecke und der Transmissionszeit durchaus zu einer artifiziellen Thrombozytenaktivierung kommen kann. Unter Umständen wird der Vorteil der Blutentnahme am Ort der Thrombozytenaktivierung durch eine artifizielle Aktivierung während der Entnahme mittels eines Katheters sogar zunichte gemacht, so dass die peripher-venöse Blutentnahme unter Einbeziehung der beschriebenen Vorgänge der lokalen und peripheren Thrombozytenaktivierung in die Ergebnisinterpretation eventuell sogar eine exaktere Analyse des Aktivierungsstatus des Thrombozytensystems erlaubt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen bei den MKPS-Patienten eine gesteigerte periphere Thrombozytenaktivierung, die mutmaßlich mit einem gesteigerten thrombo-embolischen Risiko einhergeht und ggf. einer spezifischen Therapie mit Thrombozyten-funktionshemmern bedarf [70, 150].

Weitere Studien, die den Unterschied zwischen der lokalen Thrombozytenaktivierung und der peripheren Thrombozytenaktivierung bei der Expression der verschiedenen Thrombozytenoberflächenproteine einerseits und bei verschiedenen klinischen Konstellationen und verschiedenen Abnahmetechniken andererseits untersuchen, könnten einen breiten, routinemäßigen Einsatz der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenaktivierung bei peripher-venöser Blutentnahme ermöglichen.

#### **4.1.5 Mögliche Mechanismen der Thrombozytenaktivierung bei MKPS**

Dem signifikanten Unterschied der Thrombozytenaktivierung zwischen den MKPS-Patienten und sowohl den Normalprobanden als auch den MKP-Patienten (→ 3.4.3) können eine Reihe von Pathomechanismen zu Grunde liegen, wobei sich in der Literatur vielfältige Theorien zu den möglichen Ursachen der Thrombozytenaktivierung beim MKPS und den damit zusammenhängenden thromboembolischen Ereignissen finden [8, 12, 23, 24, 25, 146].

##### **Myxomatöse Degeneration und Verdickung der Mitralsegel beim MKPS**

Bei Patienten mit MKPS konnte in der vorliegenden Arbeit eine signifikante Steigerung der Thrombozytenaktivierung festgestellt werden, die offensichtlich in einem engen Zusammenhang mit den stark verdickten und redundanten Mitralsegeln steht.

Der Vergleich zwischen MKP-Kollektiv und MKPS-Kollektiv zeigte eine hoch signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung bei Markierung mit dem monoklonalen Antikörper AK 2.28 (24,60 % vs. 32,69 %;  $P = 0,0001 *$ ). Der Antikörper Ak 2.17 zeigte diskret erhöhte Markierungswerte, und der Antikörper AK P 10 zeigte keine wesentliche Änderung der Markierungswerte.

Bei den MKPS-Patienten mit gleichzeitigem Prolaps des AML und des PML fiel bei Markierung mit dem AK 2.28 und dem AK 2.17 eine erheblich gesteigerte Thrombozytenaktivierung auf (AK 2.28: 35,19 %; AK 2.17: 14,0 %; Ak P 10: 6,72 %), während die Thrombozytenaktivierung der MKPS-Patienten mit ausschließlichem Prolaps eines Segels (AML oder PML) im Bereich der durchschnittlichen Thrombozytenaktivierung des MKPS-Kollektives lag (→3.3.5).

Die myxomatöse Degeneration und Verdickung der Mitralsegel beim MKPS kann auf vielfältigem Wege zu einer Thrombozytenaktivierung führen, so zum Beispiel durch endokarditische Läsionen mit Thrombozyten- und Fibrinauflagerungen [7, 102, 103], durch eine gesteigerte Thrombozyten-

Endothel-Interaktion und durch mechanische Irritation des Endokards mit resultierender Veränderung der endothelialen Funktion (→ 1.4.3) [75].

Die in der Literatur [14, 15] beschriebenen Veränderungen der Kollagenstruktur könnten durch eine Interaktion zwischen Thrombozyten und dem freigelegtem Kollagen der Mitralsegel, das sich unter anderem durch das elektrophoretisch nachgewiesene Fehlen von Kollagen Typ III und AB bei einem Teil der MKP-Träger auszeichnet [35], ebenfalls zu einer Thrombozytenaktivierung führen, wobei es durchaus denkbar wäre, dass das in seiner Struktur veränderte Kollagen beim MKPS zu einer stärkeren Thrombozytenaktivierung führt als bei nicht verändertem Kollagen.

Jede Verletzung oder funktionelle Schädigung der intimalen Endothelzellen führt zu einer lokal verringerten NO und Prostacyclin Freisetzung, die zu einer Hochregulation von endothelialen Adhäsionsmolekülen (CD 62P, CD 62E, ICAM-1) und nachfolgend zu einer verstärkten Adhäsion von Thrombozyten und Leukozyten führen.

Die durch diese Prozesse aktivierten Thrombozyten setzen ihrerseits zahlreiche vasoaktive und mitogene Mediatoren frei (z.B.: PDGF, FGF fibroblast growth factor, ECGF endothelial growth factor, Serotonin, ADP, Thromboxan A<sub>2</sub>), die zu einer Vasokonstriktion (→ Angina pectoris-Beschwerden bei MKPS-Patienten ?) und zu einer Stimulation der glatten Muskelzellen der Gefäßmedia und der Fibroblasten der Adventitia führen [26].

Neue Therapieprinzipien, die auf einer Inhibition dieser Thrombozytenvermittelten Prozesse beruhen, wie zum Beispiel NO-Donoren, PGI<sub>2</sub>-Analoga, GpIIb/GpIIIa-Rezeptorantagonisten und PDGF-Antagonisten, werden zur Zeit diesbezüglich auf ihre Wirksamkeit überprüft [26].

Möglicherweise sind die myxomatös degenerierten Mitralsegel mit einer (primären) Endotheldysfunktion oder einer (primären) Thrombozytenhyperaggregabilität assoziiert, so dass die gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei den MKPS-Patienten Ausdruck des Zusammenwirkens mehrerer Mechanismen ist, wobei beispielsweise denkbar wäre, dass die beim MKPS in ihrer Struktur veränderten Kollagenmoleküle im Bereich der Mitralsegel zu einer stärkeren Thrombozytenaktivierung führen als die üblichen Kollagenmoleküle (→ 1.3.2) oder dass sowohl die myxomatös veränderten Mitralsegel als auch die gestörte Endothel- bzw. Thrombozytenfunktion Ausdruck eines gemeinsamen Krankheitsprozesses sind [51, 131, 132].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit decken sich mit verschiedenen epidemiologischen Langzeitbeobachtungen, die eine eindeutige Korrelation zwischen den myxomatös verdickten, redundanten Segeln ( $\geq 5$  mm) beim MKPS und bestimmten klinischen (thromboembolischen) Komplikationen zeigen ( $\rightarrow$  4.1.7) [16, 102, 103, 162].

### **Primäre Endotheldysfunktion und Thrombozytenhyperreagibilität bei MKPS**

In der Literatur [51, 115, 131, 132, 134,] wird als Ursache der gesteigerten Thrombozytenaktivierung und des hohen thromboembolischen Risikos beim MKPS eine primäre Endotheldysfunktion bzw. primär abnorme Thrombozytenfunktion („Thrombozytenhyperaggregabilität“, pathologisch gesteigerte Thrombozytenadhäsivität) diskutiert.

Dieser Endotheldysfunktion soll eine gestörte Thrombozyten-Endothel-Interaktion mit gleichzeitiger Störung der Bildung oder der Funktion der physiologischen „Thrombozytenfunktionshemmer“ (u.a. EDRF/NO) [57] oder eine gesteigerte vWF-Freisetzung des Endothel in Verbindung mit myxomatös verdickten Mitralsegeln zugrunde liegen.

Bezüglich einer Verringerung der EDRF(NO)-Konzentration werden mehrere pathogenetische Konzepte diskutiert, so zum Beispiel eine verminderte oder fehlerhafte Produktion von EDRF(NO) im Endothel (NO-Synthetase), eine Schädigung der EDRF(NO)-stimulierenden Rezeptoren (Schädigung der endothelialen G-Proteine durch oxidiertes LDL), eine passive oder aktive Schädigung von EDRF(NO) auf dem Weg von der Endothelzelle zum Wirkort (durch oxidiertes LDL, Sauerstoffradikale) und eine relative Verringerung des EDRF(NO) aufgrund einer übermäßigen Produktion von vasokonstriktorisches und aggregationsfördernden Substanzen (z.B. Endothelin-I) [97].

In jüngster Vergangenheit konnte zudem nachgewiesen werden, dass der vom Endothel gebildete „endothelium-derived relaxing faktor“ EDRF(NO) nicht nur eine Vasodilatation bewirkt, sondern auch zur Hemmung der Adhäsion und Aggregation von Thrombozyten befähigt ist. Obwohl der EDRF(NO)-Mechanismus weder in Funktion noch Regulation vollständig verstanden ist, herrscht Einigkeit hinsichtlich der Entstehung von arteriosklerotischen Veränderungen der Gefäßwand aufgrund einer Schädigung des EDRF(NO)-Mechanismus. So konnte gezeigt werden, dass

EDRF(NO) bei Cholesterin-gefütterten Kaninchen vermindert freigesetzt bzw. vermehrt abgebaut wird [97].

Auch bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit konnte gezeigt werden, dass die Freisetzung und die Wirkung von EDRF/NO beeinträchtigt sind [82, 83].

Neben dem EDRF(NO)-Mechanismus gibt es auch noch andere Pathomechanismen, die Symptome und Komplikationen beim MKPS erklären könnten.

So könnte beispielsweise eine Verminderung eines oder mehrerer EDRF(NO)-Agonisten (Acetylcholin, Histamin, Serotonin, ADP, Peptide wie Substanz P und Bradykinin, Kalziumionophor A23187) eine vermehrte Vasokonstriktion und Thrombozytenaggregabilität erklären [97].

Auch eine durch eine primäre oder sekundäre Fehlfunktion des Endothels oder der Thrombozyten bedingte vermehrte Freisetzung des von-Willebrand-Faktors (vWF) könnte eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenadhäsionsbereitschaft [51, 132], sowie die daraus resultierenden thromboembolischen Komplikationen (v.a. zerebrale Ischämien) erklären.

*Scharf* [131, 132] schlägt eine primär abnorme Thrombozytenfunktion (z.B. „Thrombozytenhyperaggregabilität“, pathologisch gesteigerte Thrombozytenadhäsivität) als Ursache von zerebralen Ischämien (TIA, Hirninfarkt) bei einer Untergruppe der MKP-Patienten ( $\cong$  MKPS) vor.

*Fisher et al.* [36] stützen die These, dass die Thrombozytenaktivierung beim MKPS auf einem idiopathischen und nicht auf einem mechanischen bzw. hämodynamischen Pathomechanismus beruht.

Die Annahme einer primären Endotheldysfunktion, die zu einer Verminderung von EDRF/NO führt, könnte zudem den Zusammenhang einiger Symptome des MKPS-typischen Symptomenkomplex erklären, der einerseits durch eine Thrombozytenaktivierung und andererseits durch pektanginösen Beschwerden in Verbindung mit einem pathologischen Belastungs-Elektrokardiogramm vermutlich auf dem Boden einer funktionellen Koronarkonstriktion (v.a. im Bereich der kleinen Herzkranzgefäße) bei unauffälligem Koronarangiogramm charakterisiert ist [35, 51, 169].

Zudem wird die Hypothese einer (primären) Endotheldysfunktion bei Patienten mit MKPS durch die guten therapeutischen Erfolge, die mit  $\beta$ -Blockern (v.a.  $\beta_1$ -selektive  $\beta$ -Blocker) erzielt werden,

gestützt, da  $\beta$ -Blocker neben ihrer antiadrenergen Wirkung auch zu einer Vermehrung der NO-Freisetzung und damit zu Verminderung der Thrombozytenaktivierung führen ( $\rightarrow$  4.3) [14, 15, 150].

Eine (primäre) Thrombozytenhyperreaktivität, die ebenfalls als Ursache der Thrombozytenaktivierung bei MKPS diskutiert wurde [131, 132], und zirkulierende aktivierte Thrombozyten wurden im Zusammenhang verschiedener klinischer Situationen beobachtet, so z.B. bei instabiler Angina pectoris, akutem Myokardinfarkt, akuten ischämischen Ereignissen während und nach einer PTCA, bei Einsatz der Herz-Lungen-Maschine, Schlaganfall, TIA, Diabetes mellitus, Prä-Eklampsie, Koronarer Herzkrankheit (KHK), Nikotinabusus, Hyperlipoproteinämie, emotionalem Streß, außergewöhnlicher körperlicher Anstrengung und bei der Lagerung von Plättchenkonzentraten in einer Blutbank, wobei *Michelson* [94] in einer Übersichtsarbeit darauf hinweist, dass die durchaus unterschiedlichen Ergebnisse und Beurteilungen der Thrombozytenfunktion und -aktivierung bei den vorgenannten klinischen Situationen zum Teil auf methodischen Problemen und den unterschiedlichen, nicht immer standardisierten Thrombozytenfunktionstests beruhen.

Durch einige große klinischen Studien, bei denen gezeigt wurde, dass durch Thrombozytenfunktionshemmer die Inzidenz ischämischer Herzkreislaufkomplikationen herabgesetzt werden kann, wurde das pathogenetische Konzept eines direkten Zusammenhanges zwischen Thrombozytenaktivierung und kardiovaskulären Ischämien gestützt [94].

### **Mitralinsuffizienz**

Des Weiteren könnten die myxomatös degenerierten Mitralsegel - eventuell in Verbindung mit einer Mitralinsuffizienz - zu einer veränderten Hämodynamik ( $\rightarrow$  1.4.3) im Bereich der Mitralklappe (z.B. verstärkter „hämodynamischer Streß“ [57], Scherstreß [38]) und damit zu einer Thrombozytenaktivierung führen. Auch das Vorliegen einer durch den MKP bzw. das MKPS bedingten Mitralinsuffizienz könnte durch eine veränderte Hämodynamik eine Thrombozytenaktivierung verursachen [75, 88].

Einige Studien [88, 159] zeigten, dass sich das Vorliegen eines Mitralklappenprolapses nicht grundsätzlich für eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung verantwortlich zeichnet, sondern dass nur das zusätzliche Vorliegen einer schweren Mitralinsuffizienz zu einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung und damit vermutlich auch zu einem gesteigertem Risiko thromboembolischer Komplikationen führt. Die eigene durchflußzytometrische Analyse bestätigt,

dass unter bestimmten Umständen bei höhergradigen Mitralinsuffizienzen (Grad III-IV) eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung festzustellen ist, da bei zwei dieser Patienten von vier Vergleichs-Patienten mit höhergradiger Mitralinsuffizienz (Grad III-IV) eine gesteigerte Expression von CD 63 und eine erheblich gesteigerte Expression von P-selectin gefunden wurde (→ 3.3.7).

Die Ergebnisse der vorliegenden durchflußzytometrischen Untersuchung bei MKP- und MKPS-Patienten zeigten hingegen keinen signifikanten Unterschied in der peripher meßbaren Thrombozytenaktivierung zwischen Patienten mit und ohne leichtgradiger Mitralinsuffizienz (Grad I) (vgl. → 4.2.1 Risikoprofil; 3.2.7; 3.3.7).

### **Rhythmusstörungen**

*Pongratz et al.* [109] zeigten, dass Patienten mit Vorhofflimmern in einem prä-embolischen Zustand (Thrombus im linken Vorhof und/oder Spontaner Echokonstrast im linken Vorhof) und Patienten mit Vorhofflimmern und thromboembolischen Ereignissen eine signifikant höhere Expressionsrate von P-selectin und CD 63 aufweisen. Darüber hinaus fanden sich bei diesen Patienten signifikant mehr Thrombozyten-Leukozyten-Konjugate und eine leichte, nicht signifikante Erhöhung des  $\beta$ -TG-Spiegels.

Patienten mit Vorhofflimmern, die sich in keinem präembolischen oder (post-) embolischen Zustand befinden, zeigten keine signifikante Erhöhung der Thrombozytenaktivierung.

In einer anderen Studie konnten ein signifikant höherer  $\beta$ -TG-Spiegel und eine verminderte Thrombozytenzahl bei Patienten mit rheumatischer Herzerkrankung und Vorhofflimmern nachgewiesen werden [75].

Diese Ergebnisse decken sich mit Berichten über ein erhöhtes Risiko thromboembolischer Ereignisse auf dem Boden einer gesteigerter Thrombozytenaktivierung bei bestimmten Patienten mit Vorhofflimmern, vor allem bei intermittierendem Vorhofflimmern mit thrombotischen Auflagerungen auf den Mitralsegeln (→ 1.4.3) [65] und bei Patienten in einem präembolischen Zustand oder mit thromboembolischen Ereignissen in der Vorgeschichte [109].

Die Analyse der MKP- und MKPS-Patienten mit und ohne Rhythmusstörungen bzw. mit und ohne Vorhofflimmern zeigte keine Unterschiede hinsichtlich der Thrombozytenaktivierung bei diesen Kollektiven, wobei die geringe Inzidenz des Vorhofflimmerns (N= 4/35; 11 %) keine statistischen Aussagen zuläßt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in der Literatur eine Aktivierung der Thrombozyten durch eine Interaktion mit den veränderten Mitralsegeln bzw. Endokard diskutiert wird, wobei die Thrombozytenhyperreaktivität anhand einer verkürzten Plättchenüberlebenszeit, einer gesteigerten Koagulationsbereitschaft, der gesteigerten Sekretion von  $\beta$ -TG und Plättchenfaktor 4 nachgewiesen wurde [36, 131, 132, 144, 162] .

In der Literatur [51, 36, 131, 132, 144, 162] herrscht zudem Einigkeit, dass die gesteigerte Plättchenaktivität bei Patienten mit einem MKPS nicht die Folge, sondern die Ursache der thromboembolischen Ereignisse bzw. der zerebralen Ischämien ist. Diese Überzeugung begründen sie mit der fehlenden Korrelation zwischen der Plättchenaktivierung und dem Zeitpunkt, der Dauer und der Schwere der neurologischen Ereignisse. *Fisher et al* [36] verweisen auf die Tatsache, dass nicht nur Patienten mit Prolaps der Mitralsegel und mit thromboembolischen Ereignissen, sondern auch Patienten ohne jegliche andersartige Riskofaktoren und ohne thromboembolische Komplikation eine erhöhte Thrombozytenaktivierung aufweisen können.

#### **4.1.6 Vergleich der eigenen Ergebnisse mit anderen Studien zur Thrombozytenaktivierung bei MKP und MKPS**

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen hinsichtlich der veränderten Thrombozytenfunktion bei MKPS die Ergebnisse anderer Untersuchungen, von denen nachfolgend die Wichtigsten dargestellt und diskutiert werden sollen.

*Steele et al.* [144] stellten bei 12 (46 %) der Patienten mit MKP (n=26) eine signifikant verkürzte Thrombozytenhalbwertzeit fest, die sich zwar durch die Behandlung mit Sulfinpyrazon verlängern ließ, jedoch keine Normalisierung erreichte. Von den 12 Patienten mit verkürzter

Thrombozytenhalbwertszeit hatten 5 Patienten einen Insult erlitten, ohne dass ein pathologischer angiologischer Befund vorgelegen hätte.

Demnach besteht bei bestimmten MKP-Patienten eine eindeutige Verbindung zwischen einer verkürzter Plättchenüberlebenszeit, die als Hinweis auf eine Thrombozytenaktivierung angesehen wird, und dem Auftreten thromboembolischer Ereignisse.

Eine entsprechende Verbindung findet sich auch bei Patienten mit rheumatischen Herzklappenfehlern im Bereich der Mitralklappe (v.a. mit Mitralstenose), die ebenfalls von *Steele et al.* [144] hinsichtlich ihrer Plättchenüberlebenszeit untersucht wurden. In dieser Gruppe wiesen 84 % (116 von 138 Patienten) der Patienten eine verkürzte Plättchen-überlebenszeit auf, wobei die Patienten mit thromboembolischen Ereignissen zu 98 % eine verkürzte Plättchenüberlebenszeit aufwiesen und sich damit signifikant von den Patienten ohne thromboembolische Ereignisse, die in 78 % der Fälle eine verkürzte Plättchen-überlebenszeit hatten, unterschieden.

Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit unterschieden *Steele et al.*[144] nicht zwischen Patienten mit MKP und Patienten mit MKPS, so dass es fraglich bleibt, inwieweit es sich bei der Untergruppe der MKP-Patienten mit nachgewiesener Verkürzung der Thrombozytenhalbwertszeit, die zugleich ein gesteigertes Risiko thromboembolischer Komplikationen aufzuweisen scheinen, um MKPS-Patienten handelt.

In diesem Zusammenhang wäre es wünschenswert, in weiteren Studien zusätzlich den Zusammenhang zwischen der Verkürzung der Thrombozytenhalbwertszeit und der durchflußzytometrisch analysierten Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit MKP und MKPS zu untersuchen, wobei bei einem Verbrauch aktivierter Thrombozyten eine Verkürzung der Thrombozytenhalbwertszeit zu erwarten ist und bezüglich der Thrombozytenaktivierung vermutlich sowohl erhöhte Werte (aktivierte Thrombozyten befinden sich noch in der Zirkulation) als auch normale bis erniedrigte Werte (aktivierte Thrombozyten haben sich zu Komplexen zusammengelagert und die Oberflächenepitope können nicht mehr markiert werden) gemessen werden können.

**Walsh et al.** [162] untersuchten 29 Patienten mit MKP und fanden eine erhöhte Rate zirkulierender Plättchenaggregate sowie eine gesteigerte prokoagulatorische Aktivität der Plättchen, wobei die Messung der Plättchenaggregation nur semiquantitativ und anfällig für Standardisierungsprobleme ist (→ 4.1.1). Bei keinem der untersuchten Patienten waren pathologische Veränderungen, wie z.B.

Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Marfan-Syndrom oder Herzerkrankungen unterschiedlichster Genese gegeben, die eine erhöhte Thrombozytenaktivierung oder eine erhöhte Thromboemboliegefahr erklären würden.

Bei 17 dieser 29 Patienten (ca. 59 %) war ein thromboembolisches Ereignis mit zerebraler bzw. retinaler Ischämie vorausgegangen. Diese Patienten unterschieden sich hinsichtlich der koagulatorischen Aktivität hochsignifikant von den anderen Patienten mit MKP und einer Kontrollgruppe. Die Patienten mit zerebraler Ischämie (9 von 17) wiesen eine hochsignifikant erhöhte Rate an zirkulierenden Plättchenaggregaten und eine erhöhte Epinephrinkonzentration (→ vgl. neuroendokrine Dysfunktion bei MKPS) auf.

*Walsh et al.* [162] schließen aus diesen Ergebnissen auf eine Assoziation von thromboembolischen Ereignissen und einer veränderten Thrombozytenfunktion bei MKP bzw. MKPS, die entweder auf dem Kontakt von Thrombozyten mit der pathologisch veränderten Oberfläche der Mitralsegel, auf den veränderten hämodynamischen Verhältnisse oder einer Endotheldysfunktion beim MKPS beruht.

Dem berechtigten Einwurf, dass die veränderte Thrombozytenfunktion Resultat der thromboembolischen Ereignisse und nicht deren Ursache sei, wird entgegnet, dass die Untersuchungen entweder im asymptomatischen Intervall oder nach einer ausreichend langen Zeitspanne (10 Tage bis 8 Wochen) nach dem thromboembolischen Ereignis durchgeführt worden seien.

Zudem fanden *Walsh et al.* [162] bei einer weiteren Untersuchung bei jungen Patienten mit Prolaps der Mitralsegel nach erlittener TIA jedoch ohne entsprechende Risikofaktoren (Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Arteriosklerose, Hyperlipoproteinämie) eine zwei- bis dreifach erhöhte prokoagulatorische Aktivität der Plättchen im Gegensatz zu jungen Patienten mit den entsprechenden Risikofaktoren, die ihrerseits eine weitgehend normale Thrombozytenfunktion aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei jungen Patienten mit retinalen Gefäßverschlüssen ohne die traditionellen Risikofaktoren gefunden.

*Walsh et al.* [162] betonen angesichts der abnormen Plättchenfunktion in Abwesenheit von anderen Risikofaktoren die pathogenetische Bedeutung der Plättchen bei bestimmten thromboembolischen Ereignissen, wobei sie vermuten, dass die Ursache der gesteigerten Plättchenaktivität mit der degenerativ veränderten, verdickten Mitralklappe in einem engen pathogenetischen Zusammenhang steht.

*Fisher et al.* [36] fanden in einem MKP-Kollektiv zwei signifikant unterschiedliche Bereiche der Plättchenfaktor 4-Konzentration (unterhalb und oberhalb von 8 ng/ml), wobei die Untergruppe mit der signifikant gesteigerten Plättchenfaktor 4-Konzentration, die 36 % des Gesamtkollektivs ausmachte, außer einem echokardiographisch nachgewiesenen MKP keinen weiteren Risikofaktoren aufwies, die eine gesteigerte Plättchenfaktor 4-Konzentration oder gesteigerte Thrombozytenaktivierung erklären könnten.

Von besonderer praktischer Bedeutung scheint dabei die Möglichkeit zur Identifizierung dieser relativ kleinen Risikogruppe mit gesteigerter Thromboembolie-Inzidenz, bei der es sich um Patienten mit MKPS handeln könnte, innerhalb der MKP-Patientengruppe.

*Fisher et al.* [36] meinen, dass eine Erhöhung der Plättchenfaktor 4-Konzentration auf mehr als 8 ng/ml zu einer prophylaktischen Therapie mit Thrombozyten-funktionshemmern führen sollte, die bei alleinigem Vorliegen eines MKP nicht gerechtfertigt erscheint.

*Scharf et al.* [131, 132] fanden keinen Unterschied in der  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ TG)-Konzentration bei Patienten mit und ohne MKP.  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ TG) befindet sich in hoher Konzentration in der  $\alpha$ -Granula der Thrombozyten und wird bei der durch Thrombin und Kollagen induzierten Aggregation in die Umgebung abgegeben.

Bei Patienten mit abgelaufener zerebraler Ischämie fanden sich jedoch in 75 % der Fälle erhöhte  $\beta$ -TG-Plasmakonzentrationen. Der mittlere  $\beta$ -TG-Plasmaspiegel der Patienten mit abgelaufener zerebralen Ischämie war fast dreimal so hoch wie in der alters- und geschlechtsbezogenen Kontrollgruppe.

Sowohl die Analyse der Plättchenfaktor-4- als auch des  $\beta$ -TG-Plasmaspiegels spiegeln die durchschnittliche Antwort der gesamten Thrombozytenpopulation wieder, ohne dass eine Differenzierung von bestimmten Thrombozytensubpopulationen vorgenommen werden kann, so dass bei einem eher milden Aktivierungsreiz eine Analyse der Thrombozytenaktivierung deutlich schwerer sein dürfte als bei einem starken Aktivierungsreiz (z.B. Gefäßtrauma; → 4.1.1).

*Scharf et al.* [131, 132] führen des weiteren epidemiologische Argumente gegen die „MKP-Insult-Hypothese“ an, wonach bei 5 bis 20 % MKP-Trägern in der Normalbevölkerung viel häufiger entsprechende Komplikationen bei diesen Patienten auftreten müssten.

Leider wurde auch bei dieser Untersuchung nicht zwischen MKP und MKPS unterschieden, da bei Annahme einer relativ kleinen Risikogruppe mit MKPS innerhalb des MKP-Patientenkollektivs dieses epidemiologische Argument leicht entkräftet werden könnte (vgl. → 1.3.3).

*Scharf et al.* [131, 132] kommen damit zu dem Schluß, dass der MKP nicht die Ursache für die gesteigerte Plättchensekretion und damit den erhöhten  $\beta$ -TG-Plasmaspiegel ist, sondern dass bei einigen Patienten begleitend zu einem Prolaps der Mitralsegel eine gestörte Thrombozytenfunktion („Thrombozytenhyperaggregabilität“, pathologisch gesteigerte Thrombozytenadhäsivität) und ein gesteigertes Risiko thromboembolischer Komplikationen (v.a. zerebrale Ischämien) beobachtet werden kann, wobei die pathogenetische Verbindung zwischen dem Mitralklappenprolaps und der gesteigerter Thrombozytenfunktion letztendlich ungeklärt bleibt.

Die durchflußzytometrischen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen vermuten, dass die gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei MKPS auf einen chronischen, im Vergleich zu Gefäßtraumata eher milden Aktivierungsreiz handelt (→ 4.1.2, 4.1.3), so dass die von *Scharf et al.* [131, 132] erwartete Steigerung der Plättchensekretion und Erhöhung des  $\beta$ -TG-Plasmaspiegel bei Patienten mit MKPS nicht zu erwarten ist, sondern wohl eher im Rahmen akut-ischämischer Ereignisse und schwerer Gefäßtraumata zu beobachten sein dürfte.

Des weiteren zeigt auch das in der vorliegenden Arbeit untersuchte Gesamtkollektiv (MKP und MKPS) im Vergleich zum Normalkollektiv keine gesteigerte Thrombozytenaktivierung, wohingegen der Vergleich zwischen MKPS-Kollektiv und Normalkollektiv eine signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung beim MKPS-Kollektiv zeigt, so dass *Scharf et al.* [131, 132] bei einer Trennung zwischen MKP- und MKPS-Patienten eventuell ebenfalls unterschiedliche Thrombozytenfunktionswerte bei diesen Kollektiven hätten finden können.

*Martini et al.* [88] untersuchten mittels Plättchenaggregation, Bestimmung von  $\beta$ -TG und PF 4 und Durchflußzytometrie (P-selectin, Gp IIb-IIIa) die Thrombozyten-aktivierung bei Patienten mit MKP im Vergleich zu einem Normalkollektiv.

Es fand sich kein signifikanter Unterschied dieser Thrombozytenaktivierungsparameter zwischen dem MKP-Kollektiv und dem Normalkollektiv, wobei man auch dieser Studie anlasten muß, dass ebenfalls nicht zwischen MKP- und MKPS-Patienten unterschieden wurde und das die Expression

von CD 63, die in der vorliegenden Arbeit bei MKPS-Patienten signifikant vermehrt war, nicht gemessen wurde.

MKP-Patienten mit schwerer Mitralinsuffizienz zeigten bei *Martini et al.* [88] eine signifikant niedrigere P-selectin Expression als MKP-Patienten ohne bzw. mit leichter Mitralinsuffizienz sowie signifikant höhere Plasmaspiegel der Prothrombinfragmente F1+2 als MKP-Patienten ohne bzw. mit leichter Mitralinsuffizienz und als das Normalkollektiv [88].

*Martini et al.* [88] folgern aus ihren Ergebnissen, dass das Vorliegen eines Mitralklappenprolaps nicht grundsätzlich für eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung verantwortlich zeichnet, sondern dass nur das zusätzliche Vorliegen einer schweren Mitralinsuffizienz zu einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung und damit vermutlich auch zu einem gesteigertem Risiko thromboembolischer Komplikationen führt.

In der Literatur finden sich diesbezüglich weitere Hinweise, die darauf hindeuten, dass das Vorliegen einer (schweren) Mitralinsuffizienz bei MKP und beim MKPS mit einer ungünstigeren Prognose und vermehrt auftretenden thromboembolischen Komplikationen (v.a. zerebralen Ischämien) assoziiert ist (→ 3.3.7) [86, 102, 103].

*Martini et al.* [88] weisen weiterhin auf die Schwierigkeit hin, den pathogenetischen Zusammenhang zwischen einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung und den morphologischen Veränderungen bei MKP-Patienten mit schwerer Mitralinsuffizienz aufzuklären, da eine schwere Mitralinsuffizienz bei MKP-Patienten in hohem Maße mit erheblich verdickten Mitralsegeln korreliert ( $r = 0,87$ ), und die schwere Mitralinsuffizienz zudem auf genetisch bedingten Bindegewebsstörungen beruhen kann, die ihrerseits ebenfalls zu einer Thrombozytenaktivierung führen können.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass die gesteigerte Thrombozytenaktivierung bei MKPS eher mit den myxomatös verdickten Mitralsegeln und nicht mit einer eventuell bestehenden (leichten) Mitralinsuffizienz zusammenhängt.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass in der Literatur eine Aktivierung der Thrombozyten durch eine Interaktion mit den veränderten Mitralsegeln bzw. Endokard diskutiert

wird, wobei die Thrombozytenhyperreagibilität anhand einer verkürzten Plättchenüberlebenszeit, einer gesteigerten Koagulationsbereitschaft, der gesteigerten Sekretion von  $\beta$ -TG und Plättchenfaktor 4 nachgewiesen wurde.

Mit *Steele et al.* [144] und *Walsh et al.* [162] übereinstimmend nehmen *Scharf et al.* [131, 132] an, dass die gesteigerte Plättchenaktivität nicht die Folge, sondern die Ursache der thromboembolischen Ereignisse bzw. der zerebralen Ischämien ist (s.o.). Diese Überzeugung begründen sie mit der fehlenden Korrelation zwischen der Plättchenaktivierung und dem Zeitpunkt, der Dauer und der Schwere des neurologischen Ereignisses. Auch in der vorliegenden Arbeit fanden sich bei Patienten mit abgelaufenen thromboembolischen Ereignissen trotz großem zeitlichen Abstand zum jeweiligen Ereignis durchweg gesteigerte Thrombozytenaktivierungswerte.

*Fisher et al.* [36] verweisen auf die Tatsache, dass nicht nur MKP-Patienten mit thromboembolischen Ereignissen, sondern auch MKP-Patienten ohne jegliche andersartige Risikofaktoren und ohne thromboembolische Komplikation eine erhöhte Thrombozytenaktivierung aufweisen können.

Die vorliegende Arbeit zeigte, dass durch konsequente Trennung von Patienten mit MKP und Patienten mit MKPS mittels echokardiographischer und klinischer Kriterien eine Patientengruppe mit signifikant gesteigerter Thrombozytenaktivierung und damit vermutlich auch gesteigertem thromboembolischen Risiko identifiziert werden kann.

Erst durch diese konsequente Trennung zwischen MKP und MKPS können einige der Unklarheiten bezüglich des Risikoprofils von Patienten mit einem Prolaps der Mitralsegel gelöst werden, da es sich bei den Patienten mit MKPS um eine Gruppe mit einem gegenüber den Patienten mit MKP deutlich gesteigertem thromboembolischen Risiko handelt.

*Fisher et al.* stützen die These von *Scharf et al.*, wonach die Thrombozytenaktivierung auf einem idiopathischen Pathomechanismus beruhen könnte. Sie halten jedoch darüber hinaus auch eine Thrombozytenaktivierung durch die Interaktion der Thrombozyten mit der pathologisch veränderten Mitralklappe und/oder dem pathologisch veränderten Endokard bzw. Endothel für möglich.

Die Ergebnisse der durchflußzytometrischen Analyse (AK 2.28) dieser Arbeit belegen, dass es beim MKPS zu einer Steigerung der Thrombozytenaktivierung kommt, wobei diese gesteigerte

Aktivierung außer mit dem MKPS an sich und teilweise auch mit abgelaufenen thromboembolischen Ereignissen (v.a. Amaurosis fugax) mit keinen weiteren Faktoren eindeutig korreliert werden konnte. Die Analyse der Ergebnisse zeigt, dass die signifikanten Unterschiede der Thrombozytenaktivierung mit dem Vorliegen von myxomatös verdickten Mitralsegeln beim MKPS einhergehen und nicht mit den gegebenenfalls gleichzeitig vorhandenen Komplikationen (z.B. Thromboembolien) oder Begleiterkrankungen assoziiert sind.

#### **4.1.7 Thromboembolische Komplikationen bei gesteigerter Thrombozytenaktivierung**

Die Differenzierung von Patienten mit normaler oder gesteigerter Thrombozyten-aktivierung soll eine Aussage über das Risiko thromboembolischer Komplikationen, die auf einer gesteigerten Thrombozytenaktivierung beruhen, ermöglichen.

Neben anderen Autoren [23, 24, 25, 36, 105, 169] wiesen auch *Jones et al.* [71] auf die Schwierigkeiten der Vorhersage des Verlaufs bei Patienten mit MKP hin. In einer Gruppe von 760 MKP-Patienten wurde während einer fünfjährigen Beobachtungszeit nur ein zerebraler Insult beobachtet, wohingegen bei 43 Patienten mit zerebralen Embolien in 21 % der Fälle ein MKP nachgewiesen werden konnte.

Typische thromboembolische Komplikationen bei MKP bzw. MKPS sind retinale und zerebrale Ischämien, wobei zu den zerebrale Ischämien transitorisch ischämische Attacken (TIA), prolongierte reversible ischämische neurologische Defizite (PRIND) und apoplektische Insulte gehören. Eine Ursache zerebraler Ischämien beim MKP sollen Veränderungen der Hämodynamik mit begleitender intrakardialer Thrombenbildung und resultierender Ausschwemmung dieser Thromben in die Gefäße des Gehirns sein [23, 24, 25, 36, 169].

*Kolleger et al.* [71] untersuchten 1988 die Ergebnisse der damals maßgeblichen Studien, wobei die Studien in drei Gruppen unterteilt wurden. Die erste Gruppe umfaßte Studien [7, 8, 71, 131, 132] die einen engen Zusammenhang zwischen MKP und zerebralen Ischämien nahe legten, die zweite Gruppe bestand aus Studien, die diesen Zusammenhang fraglich erscheinen lassen, und die dritte Gruppe der Studien verneinte jeglichen Zusammenhang.

Das Problem aller Studien bestand in der Erfassung und Bewertung von über den MKP hinausgehenden (Risiko-) Faktoren, wie zum Beispiel anderer kardiologischen und angiologischen Erkrankungen, Stoffwechselerkrankungen (z.B. Diabetes mellitus), Medikamenten und eines eventuellen Nikotinabusus.

Außerdem wurde in den einzelnen Studien meist nicht bzw. nicht eindeutig zwischen einem MKP und einem MKPS unterschieden, so dass die sehr unterschiedlichen Angaben über die Häufigkeit zerebraler Ischämien teilweise auch durch das jeweils unterschiedliche Verhältnis von MKP- und MKPS-Patienten bedingt sein dürften.

Zur Gruppe der Studien, die einen engen Zusammenhang zwischen MKP und zerebralen Ischämien vermuten lassen, gehört unter anderem auch eine Studie von *Barnett et al.* [7, 8]. In dieser Studie wurde nachgewiesen, dass bei Patienten unter 45 Jahren (n=60), die wegen einer TIA oder zerebralen Ischämie hospitalisiert worden waren, 40 % einen MKP (Nachweis mittels M-Mode-Echo) aufwiesen (davon 30 % einen MKP als einzigen Risikofaktor). In einer Kontrollgruppe, die nach Alter und Geschlecht vergleichbar war, wurde jedoch nur in 6,8 % der Fälle ( $p \leq 0,001$ ) ein MKP nachgewiesen.

Eine prospektive Studie von *Kouvaras et al.* [71] kam zu ähnlichen Ergebnissen. Bei 66 Patienten unter 50 Jahren (mit unauffälligen Angiographiebefunden), die eine TIA oder zerebrale Ischämie erlitten hatten, wiesen 24 % als einzigen Risikofaktor einen MKP (2D-Echo) auf.

*Scharf et al.* [71, 131, 132] fanden 1982 bei 28 % der Patienten  $\leq 45$  Jahre (n=47) mit TIA oder zerebraler Ischämie einen MKP (Kontrollgruppe 8 %). Andererseits wurde kein signifikanter Unterschied der in-vivo-Plättchenaggregation, die anhand der Höhe des  $\beta$ -Thromboglobulin-Spiegels bestimmt wurde, zwischen Patienten mit MKP und Patienten ohne MKP gefunden. *Scharf et al.* folgerten daraus, dass der MKP an sich nicht die Ursache der zerebralen Durchblutungsstörungen sein könnten.

Thromboembolische Komplikationen waren bei den MKPS-Patienten in der Vorgeschichte häufiger aufgetreten als bei den MKP-Patienten, wobei bei 12,5 % der MKPS-Patienten eine Amaurosis fugax (MKP: 5,2 %) und bei 6,25 % eine TIA (MKP: 5,2 %) aufgetreten war (→ 3.4).

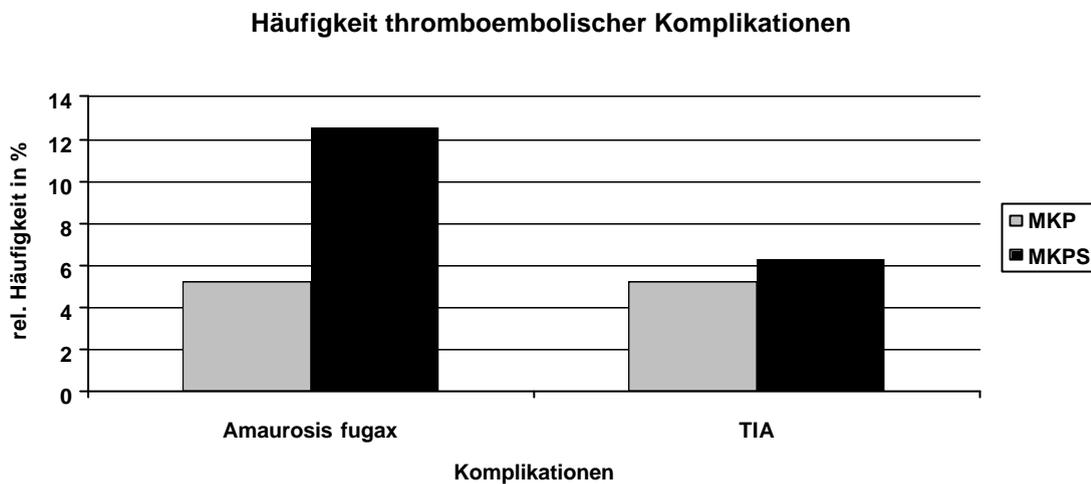


Abbildung: 3.17

Die Analyse der Daten der vorliegenden Arbeit zeigte bei Patienten mit einer Amaurosis fugax unabhängig von ihrer Zugehörigkeit zum MKP- oder MKPS-Kollektiv eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung (Markierung mit Ak 2.28: Ø 35,49 %; n =3).

Bei der Abschätzung des Risikos von eventuellen thromboembolischen Komplikationen kann es hilfreich sein, folgendes Bild eines MKPS-Risikopatienten vor Augen zu haben [in Anlehnung an 16, 102, 103, 105] :

- MKPS mit erheblich verdickte Mitralsegel  $\geq 5$  mm  
(Nachweis mittels Echokardiographie)
- Gesteigerte Thrombozytenaktivierung (Durchflußzytometrie: AK 2.28:  $\geq 30$  %)
- Anamnese (vorangegangene thromboembolische Komplikationen ?)
- Mann  $\geq 45$  Jahre

- typischer Auskultationsbefund
- zuletzt progrediente (höhergradige) Mitralinsuffizienz (→ 4.2.2 \*, 3.3.7)
- Plättchenfaktor 4  $\geq$  8 ng/ml [36]

Es wäre wünschenswert, durch epidemiologischen Studien an großen Kollektiven weiter nach prädiktiven Kriterien für MKPS-Komplikationen zu fahnden und damit zu versuchen, differenziertere Risikoprofile von MKPS-Patienten zu ermitteln.

## 4.2 Prognostische Bedeutung der Ergebnisse

*Tschöpe et al.* [150] zeigten bei Patienten mit einem aktivierten Thrombozytensystem (Steigerung der Thrombozytenaktivierung eines Markers um mehr als 3 Standardabweichungen von der Norm) mit Hilfe der durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung ein doppelt so hohes Risiko akut-ischämischer Ereignisse im Rahmen einer PTCA [150], wobei durchflußzytometrische Analyse der Thrombozyten-aktivierung mittels monoklonaler Antikörper eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 58,3 % aufwies.

Das MKPS-Kollektiv, das eine gegenüber dem Normalkollektiv und auch gegenüber dem MKP-Kollektiv signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung (Ak 2.28) aufweist, dürfte dementsprechend ebenfalls ein höheres Risiko thromboembolischer Komplikationen aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit zeigten beispielsweise MKPS-Patienten mit thrombo-embolischen Ereignissen in der Vorgeschichte (Amaurosis fugax;  $\geq 2$  Jahre) deutlich erhöhte Thrombozytenaktivierungswerte ( $\rightarrow$  3.3.6).

Um die Aussagekraft der hier verwendeten Methode bezüglich des thromboembolischen Risikos beim MKPS oder in anderen pathogenetischen Konstellationen (z.B. septischer Schock, Zustand nach Herzklappenersatz, etc.) abschätzen zu können, müssen weitere kontrollierter Langzeitverlaufsstudien an verschiedenen Patientenkollektiven durchgeführt werden. Es ist somit durchaus vorstellbar, dass ein Grenzwert der Thrombozyten-aktivierung (z.B. Ak 2.28  $\geq 30$  %) in Zusammenschau mit dem jeweils charakteristischem durchflußzytometrischen Aktivierungsprofil helfen könnte, beliebige andere Patientenkollektive (z.B. DIC bei Sepsis, Instabile Angina pectoris, Postinfarktpatienten, TIA) hinsichtlich ihrer Thrombozytenaktivierung und damit auch hinsichtlich ihres thromboembolischen Risikoprofils zu analysieren.

Die durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung könnte somit bei MKPS-Patienten durchaus genutzt werden, um beispielsweise bei jungen Patienten anhand der Thrombozytenaktivierung das Risiko thromboembolischer Komplikationen zu ermitteln und gegebenenfalls die entsprechende Prophylaxe bzw. Therapie einzuleiten. Obschon sich sowohl im MKP-Kollektiv wie auch im MKPS-Kollektiv relativ wenig Patienten mit thromboembolischen Komplikationen fanden, fiel dennoch auf, dass beispielsweise Patienten mit einer Amaurosis fugax (n = 3) in beiden Kollektiven erhöhte Thrombozytenaktivierungswerte aufwiesen ( $\rightarrow$  3.4.5) [79, 134].

**Thrombozytenaktivierung (AK 2.28) bei MKP und MKPS**

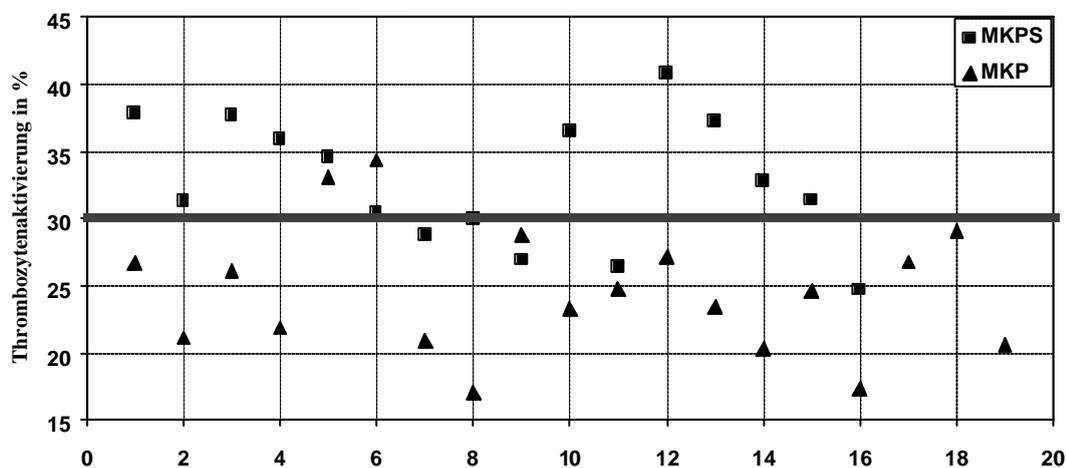


Abbildung 4.1: Thrombozytenaktivierung (AK 2.28) bei MKP und MKPS

Obwohl bei vorliegender Untersuchung die Blutentnahme nach dem Auftreten eventueller thromboembolischen Komplikationen vorgenommen wurde, scheint die festgestellte, erhöhte Thrombozytenaktivierung die Ursache, und nicht die Folge der thromboembolischen Komplikationen zu sein [131, 132, 144, 162]. Zudem lagen die thromboembolischen Ereignisse ein bis zwei Jahre zurück, so dass es unwahrscheinlich ist, dass die nachgewiesene gesteigerte Thrombozytenaktivierung durch die vorangegangenen thromboembolischen Ereignisse hervorgerufen wurde.

Da nicht nur MKP- bzw. MKPS-Patienten mit thromboembolischen Ereignissen, sondern auch zahlreiche MKPS-Patienten ohne jegliche andersartige Risikofaktoren und ohne thromboembolische Komplikation eine erhöhte Thrombozytenaktivierung zeigten, wäre eine langjährige, vergleichende Nachbeobachtung der Kollektive wünschenswert, die eventuell zeigen könnte, ob und in welchem Ausmaß im weiteren Verlauf bei den bisher komplikationslosen Patienten mit gesteigerten Thrombozytenaktivierungswerten thromboembolische Ereignisse auftreten werden.

In Zukunft könnte das Ausmaß der individuellen Thrombozytenaktivierung eine weitergehende Charakterisierung des Aktivierungsprofils und damit ggf. auch des individuellen thromboembolischen Risikoprofils von Patienten mit MKPS ermöglichen, und damit auch als Beurteilungskriterium für die individuelle Prognose dienen (→ 4.1.7).

## 4.3 Therapeutische Bedeutung der Ergebnisse

Die Therapie von MKPS-Patienten sollte folgende Bereiche erfassen :

- Prophylaxe thromboembolischer Ereignisse
- Antiarrhythmische Therapie
- Endokarditis-Prophylaxe (bei Vorliegen einer Mitralinsuffizienz; s.u.)

Die Analyse der Thrombozytenaktivierung kann die grundsätzliche Notwendigkeit einer Therapie zur Vermeidung thromboembolischer Komplikationen zeigen, z.B. durch Nachweis eines präthrombotischen Zustandes [57, 83, 93].

Im Gegensatz zum MKP mit seinem eher gutartigem Verlauf müssen beim MKPS eventuelle thromboembolische Komplikationen zu einem früheren Zeitpunkt in die therapeutischen Überlegungen einbezogen werden und zu einem therapeutischem Handeln führen, wobei insbesondere MKPS-Patienten mit einer erheblich gesteigerten Thrombozytenaktivierung und MKPS-Patienten, die anamnestisch bereits thromboembolischen Komplikationen (TIA, Amaurosis fugax) aufweisen, entsprechend therapiert werden sollten.

Eine **Thromboembolieprophylaxe** sollte demnach nicht routinemäßig, sondern erst nach abgelaufenen zerebralen Störungen (TIA, PRIND, Apoplex) und peripheren arteriellen Embolisationen und/oder beim Nachweis einer erheblich gesteigerten Thrombozyten-aktivierung erfolgen.

*Fisher et al.* [36] schlagen in diesem Zusammenhang vor, dass eine Erhöhung der Plättchenfaktor 4-Konzentration auf mehr als 8 ng/ml zu einer prophylaktischen antithrombotischen Therapie führen sollte, die bei alleinigem Vorliegen eines MKP nicht gerechtfertigt erscheint.

Bei MKPS-Patienten mit retinalen Gefäßverschlüssen und Amaurosis fugax wird die prophylaktische Gabe von Acetylsalicylsäure (100 mg/dies) zur Thrombozyten-aggregationshemmung empfohlen [79, 134], wobei die Wirksamkeit einer medikamentösen Therapie beispielsweise mit Acetylsalicylsäure oder anderen Thrombozytenfunktionshemmern weder durch die in der vorliegenden Arbeit verwendete Methode der durchflußzytometrischen Analyse der Thrombozytenfunktion noch durch andere für die klinische Routine anwendbare Therapiekontrollverfahren direkt kontrolliert wurden [57, 149].

Bei Patienten mit gesteigerter Thrombozytenaktivierung ist des weiteren eine Therapie mit monoklonalen Antikörpern [21, 41, 57, 70], die die Interaktionen zwischen den Thrombozyten einerseits und zwischen Thrombozyten und Endothel andererseits beeinflussen, denkbar. *Coller et al.* [21] wiesen den hervorragenden antithrombotischen Effekt von Antikörpern, die gegen den Glykoproteinrezeptor IIb/IIIa der Thrombozyten gerichtet waren, nach. Die EPIC-Studie zeigte bei Verwendung des monoklonalen Antikörper c7E3, der sich gegen das Oberflächenantigen GP

IIb/IIIa richtet, im Rahmen einer Hochrisiko-PTCA eine Verminderung der Reokklusionsrate von bis zu 35 % und eine Verminderung der Langzeit-Restenosisierungsrate von bis zu 23 % [41, 70].

Durch eine solche Therapie könnte gezielt und sehr spezifisch in die Entstehung von Krankheitsprozessen eingegriffen werden, die zu einer unkontrollierten Thrombozyten-aktivierung führen.

Bei Berücksichtigung der pathogenetischen Überlegungen zur Thrombozyten-aktivierung bei MKPS wäre zudem eine therapeutische Beeinflussung der (gestörten) Endothelfunktion wünschenswert. In jüngster Zeit haben sich Hinweise ergeben, dass eine Therapie mit bestimmten organischen Nitraten (Molsidomin, SIN-1) sowohl über eine Koronardilatation wie auch über eine Beeinflussung der Thrombozytenfunktion (Erhöhung von cGMP, Hemmung des thrombozytären Arachidonsäurestoffwechsel) bei Patienten mit Angina pectoris hilfreich ist [136]. Auch bei MKPS-Patienten mit pektanginösen Beschwerden und gesteigerter Thrombozytenaktivierung aufgrund (primärer) Endotheldysfunktion könnte man eine entsprechende therapeutische Wirkung erwarten, wobei entsprechende kontrollierte Studien bislang nicht vorliegen.

Auch eine Therapie mit Prostazyklinanaloga (PGI<sub>2</sub>), wie zum Beispiel Iloprost, Cicaprost und Taprosten, ist theoretisch zur Beeinflussung der Endothel- und Thrombozytenfunktion denkbar [136].

In Zukunft werden sich sicherlich weitere therapeutische Konzepte ergeben, die sich ebenfalls an der physiologischen Regulation der Endothel- und Thrombozytenfunktion oder an der Interaktion zwischen Endothel und Thrombozyten orientieren (z.B. „Anti-vWF“, TFPI - tissue factor pathway inhibition [116]).

Die Thrombozytenaktivierung bei MKPS kann eventuell auch über die Ausschaltung möglicher anderer Ursachen der Aktivierung, wie zum Beispiel einer (höhergradigen) Mitralinsuffizienz (u.U. durch Klappenersatz oder -rekonstruktion), Endotheldefekten der Mitralsegel, Thrombozytenauflagerungen an den Mitralsegeln und Herzrhythmusstörungen herabgesetzt werden.

Zur Behandlung der **Rhythmusstörungen** werden  $\beta$ -Blocker empfohlen [23, 24, 25, 66, 169], die neben ihrer antiadrenergen Wirkung auch zu einer Vermehrung der NO-Freisetzung und damit zu Verminderung der Thrombozytenaktivierung führen ( $\leftrightarrow$  4.1 ) [14, 15, 150]. Die Indikation der antiarrhythmischen Therapie kann anhand bestimmter Befundkonstellationen gestellt werden [23, 24, 25].

So können die jeweiligen Befunde in zwei Gruppen eingeteilt werden :

- Gruppe 1 : - Synkope(n)
  - formal Lown IV im Langzeit-EKG
  - ventrikuläre Tachykardie bei ventrikulärer Stimulation
  
- Gruppe 2: - Kammerendteilveränderung im Ruhe- und/oder Belastungs-EKG
  - spätsystolischer Prolaps
  - Klick
  - weibliches Geschlecht
  - zusätzlicher kardialer Befund
  - positive Familienanamnese

*Curtius et al.* [23, 24, 25] schlagen eine antiarrhythmische Therapie bei Erfüllung zweier Kriterien der Gruppe 1 oder einem Kriterium der Gruppe 1 und drei Kriterien der Gruppe 2 vor. *Kafka* [66] weist auf das gute Ansprechen der MKPS-Patienten mit Arrhythmien auf die Gabe eines  $\beta$ -Blockers (z.B. Atenolol  $2 \times 25$  mg) hin. Er schließt daraus in Anlehnung an Boudoulas [14, 15] auf eine Steigerung des Sympathikotonus bei MKPS-Patienten, welche für die Arrhythmien direkt oder indirekt verantwortlich ist.

In den Richtlinien der Deutschen Gesellschaft für Herz- und Kreislaufforschung wurde 1987 eine Endokarditis-Prophylaxe bei Patienten mit MKP und systolischem Geräusch, abhängig vom Ausmaß einer begleitenden Mitralinsuffizienz, dem Alter, dem Geschlecht, der Struktur der Klappe, eventuell vorangegangenen Endokarditiden und sonstigen Kofaktoren, empfohlen [27, 35].

Zu den häufigsten Erregern einer Endokarditis bei MKP zählen vergrünende Streptokokken und Staphylokokken, wobei Penicillin, Vancomycin und Clindamycin als antibiotische Prophylaxe zum Beispiel vor Zahnextraktion empfohlen werden [54].

In neueren Studien wird aufgrund der gesteigerten Prädisposition bei MKPS-Patienten im Gegensatz zu den asymptomatischen MKP-Patienten eine noch konsequentere Endokarditisprophylaxe empfohlen [53, 107].

Dabei sollten nicht die begleitende Mitralinsuffizienz oder das Klick-Geräusch im Vordergrund der prophylaktischen Überlegungen stehen, sondern vor allem der MKPS-typische echokardiographische Befund (→ 1.3) mit begleitender, charakteristischer Klinik des MKPS.

Die Gefahr einer Endokarditis besteht bei MKPS bei allen therapeutischen oder diagnostischen Eingriffen mit begleitender Bakteriämie, wobei das Risiko einer Endokarditis bei MKPS-Patienten mit 0,0146 % / Jahr erheblich größer als bei den Patienten mit MKP (0,0026 %/Jahr) ist [53, 107].

## ***5. Zusammenfassung***

## **Durchflußzytometrische Analyse der Thrombozytenaktivierung mittels monoklonaler Antikörper bei Patienten mit Mitralklappenprolaps (MKP) und Mitralklappenprolaps-Syndrom (MKPS)**

Das MKPS ist durch myxomatös degenerierte Mitralklappensegel (Verdickung  $\geq 5$  mm), typische klinische Symptome und eine erhöhte Thromboembolie-Inzidenz, möglicherweise auf dem Boden einer Endotheldysfunktion und einer (idiopathischen) Thrombozytenaktivierung, charakterisiert.

Bei 16 konsekutiven Patienten mit MKPS (10 F, 6 M;  $46 \pm 14$  Jahre) und 19 Patienten mit MKP (13 F, 6 M;  $52 \pm 14$  Jahre) wurde mittels monoklonaler Antikörper durchflußzytometrisch die Expression von Aktivierungsmarkern (CD 63, CD 62, Thrombospondin) der Thrombozyten verglichen.

Die MKPS-Patienten wiesen bei Markierung mit dem Antikörper AK 2.28 (CD 63) mit  $32,69 \pm 4,7$  % signifikant mehr aktivierte Thrombozyten auf, als die MKP-Patienten mit  $24,60 \pm 4,7$  % und die Normalprobanden (n= 50) mit  $27,19 \pm 6,86$  %.

**Schlußfolgerung:** Patienten mit MKPS weisen eine im Vergleich zu Patienten mit einem MKP signifikant höhere Thrombozytenaktivierung auf (AK 2.28:  $p \leq 0,003$ ).

## 6. Literaturverzeichnis

[01]

Abrams, C.S., Ellison, N., Budzynski, A.Z., Shattil, S.J.

Direct Detection of Activated Platelets and Platelet-Derived Microparticles in Humans

*Blood* 75/1 (1990) 128-138

[02]

Alber, G.

Mitralklappenprolaps

*Fortschritte der Medizin* 104 (12) (1986) 248-52

[03]

Alpert, M.A., Sabeti, M., Kushner, M.G., Beitmann, B.D., Russel, J.L., Thiele, J.R.,

Mukerji, V.

Frequency of Isolated Panic Attacks and Panic Disorder in Patients with the Mitral Valve Prolapse Syndrome

*The American Journal of Cardiology* 69 (1992); 1489-1490

[04]

Baedeker, W., Alt, E., Goedel-Meinen, L., Schmidt, G., von Bibra, H., Klein, G., Ulm, K.

Herzrhythmusstörungen und ihre klinische Bedeutung beim Mitralklappenprolaps

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 109 (1984) 661-6

[05]

Banasiak, W., Pajak, I., Ponikowski, P., Lacheta, W., Wiech, K., Piepoli, M., Telichowski, C.

P-wave signal-averaged electrocardiogram in patients with idiopathic mitral valve prolapse syndrome and supraventricular arrhythmias

*International Journal of Cardiology* 50 (1995); 175-180

[06]

Barletta, G.A., Gagliardi, R., Benvenuti, L., Fantini, F.

Cerebral Ischemic Attaks As A Complication Of Aortic And Mitral Valve Prolapse

*Stroke* 16 (1985) 219-223

[07]

Barnett, H.J.M.(1)

Embolism in mitral valve prolapse

*Ann. Rev. Med.* 33 (1982) 489-507

[08]

Barnett, H.J.M.(2), Boughner, DR., Taylor, DW., Cooper, PE., Kostuk, WJ., Nichol, PM.

Further evidence relating mitral-valve prolapse to cerebral ischemic events

*New England Journal of Medicine* 302 (1980) 139-144

[09]

Barnett, H.J.M. (3), Jones, M.W., Boughner, D.R., Kostok, W.J.

Cerebral ischaemic events associated with prolapsing mitral valve

*Arch. Neurol.* 33 (1976) 777-782

[10]

Blann, A. D., Lip, G.Y.P.

Hypothesis: is soluble P-selectin a new marker of platelet activation ?

*Atherosclerosis* 128 (1997) 135-138

[11]

Bluschke, V., Köhler, E., Seipel, L., Leuner

Arrhythmien beim Mitralklappenprolapse-syndrom

*Zeitschrift für Kardiologie* 68 (1979) 396-403

[12]

Bluschke, V. (2), Hennerici, M., Scharf, R.E., Kladetzky, G., Breithardt, G.,

Lück, J., Köhler, E.

Mitralklappenprolaps-Syndrom und Thrombozytenaktivität bei jungen Patienten mit zerebralen  
Ischämien

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 107 (1982) 410

[13]

Bogousslavsky, J., Regli, F.

Ischemic stroke in adults younger than 30 years of age

*Archiv of Neurology* 44 (1987) 479-482

[14]

Boudoulas, H.(1), Wooley, C.F.

Mitral valve prolapse and the mitral valve prolapse syndrome

*Futura Publishing Company, Inc., Mount Kisco, New York, 1988*

[15]

Boudoulas, H.(2)

Mitral valve prolapse and mitral valve prolapse syndrome :

A diagnostic classification and pathogenesis of symptoms

*American Heart Journal* 118 (5) (1989) 796-818

[16]

Boudoulas, H.(3)

Mitral valve prolapse: etiology, clinical presentation and neuroendocrine function

*Journal of Heart Valve Diseases* 1 (1992) 175-188

[17]

Chandraratna, P.A.N., Nimalasuriya, A., Kawanishi, D., Duncan, P., Rosin, B.,  
Rahimtoola, S.H.

Identification of the Increased Frequency of Cardiovascular Abnormalities Associated with Mitral  
Valve Prolapse by Two-Dimensional Echocardiography

*The American Journal of Cardiology* 54 (1984) 1283-1285

[18]

Cheng, T.O., Xie, M.-X., Wang, X.-F., Li, Z.-A., Hu, G.

Evaluation of mitral valve prolapse by echocardiography

*American Heart Journal* 133 (1997) 120-129

[19]

Chesler, E., King, R.A., Edwards, J.E.

The Myxomatous Mitral Valve and Sudden Death

*Circulation* 67 (1983) 632-639

[20]

Chignier, E., Parise, M., McGregor, L., Delabre, C., Faucompret, S., McGregor, J.

A P-Selectin/CD62P Monoklonal Antibody (LYP-20), in Tandem with Flow Cytometry, Detects in  
vivo Activated Circulating Rat Platelets in Severe Vascular Trauma

*Thrombosis and Haemostasis* 72 (1994) 745-749

[21]

Coller, B.S., Folts, J.D., Scudder L.E., Smith S.R.

Antithrombotic Effect of a Monoclonal Antibody to the Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptor in an  
Experimental Animal Model

*Blood* 68/3 (1986) 783-786

[22]

Collins, P.W., Macey, M.G., Cahill, M.R., Newland, A.C.

Von Willebrand Factor Release and P-Selectin Expression Is Stimulated by Thrombin and Trypsin  
but not IL-1 in Cultured Human Endothelial Cells

*Thrombosis and Haemostasis* 70 (2) (1993) 346-50

[23]

Curtius, J.M.(1), Bents, R., Bungard, U.

Klinischer Verlauf bei 470 Patienten mit Mitralklappenprolaps

*Zeitschrift für Kardiologie* 75 (1) (1986) 1-7

[24]

Curtius, J.M.(2), Loogen, F.

Diagnose und klinische Bedeutung des Mitralklappenprolaps

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 110 (15) (1985) 592-5

[25]

Curtius, J.M.(3), Loogen, F.

Therapie des Mitralklappenprolaps und seiner Komplikationen

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 110 (15) (1985) 595-7

[26]

Darius, H.

Thrombozyteninteraktionen mit der Gefäßwand und ihre Bedeutung für die Restenose

*Zeitschrift für Kardiologie* 1997

[27]

Deutsche Gesellschaft für Herz- und Kreislaufforschung

Empfehlungen zur Prophylaxe bakterieller Endokarditiden

*Zeitschrift für Kardiologie* 76 (1987), 451-53

[28]

Devereux, R.B., Kramer-Fox, R., Shear, M.K., Kligfield, P., Pini, R., Savage, D.D.

Diagnosis and classification of severity of mitral valve prolapse:

Methodic, biologic, and prognostic considerations

*American Heart Journal* 113 (5) (1987), 121265-80

[29]

Devereux, R.B.(2), Kramer-Fox, R., Kligfield, P.

Mitral valve prolapse: causes, clinical manifestations and management

*Annals of internal medicine* 111 (1989), 305-317

[30]

Devereux, R.B.(3), Kramer-Fox, R., Kligfield, P.

Mitral Valve Prolapse: Causes, Clinical Manifestations, and Management

*Annals of Internal Medicine* 111 (1989); 305-317

[31]

Di Minno, G., Thiagarajan P., Perussia, B., Shapiro, S., Trinchieri, G., Murphy, S.

Exposure of Platelet Fibrinogen-Binding Sites by Collagen, Arachidonic Acid and ADP :

Inhibition by a Monoclonal Antibody to the Glycoprotein IIb-IIIa Complex

*Blood* 61 (1983)140-148

[32]

Dißmann, R., Völler, H., Sorge, M., Schröder, K., Horstkotte, D., Schultheiß, H.-P.

Fehlermöglichkeiten bei der Diagnose linksatrialer Thromben im transösophagealen

Echokardiogramm

*Zeitschrift für Kardiologie* 85 (1996) 343-350

[33]

Doerr, W.

Mitralklappenprolaps als mittelbare Todesursache

*Pathologe 12 (1991) 295-300*

[34]

Egeblad, H., Sorensen, PS.

Prevalence of mitral valve prolapse in younger patients with cerebral ischemic attacks

*Acta Med Scand 216 (1984) 385-391*

[35]

Erbel, R., Mortasawi, A., Kramer, G., Ökert, H., Meyer, J.

Das Mitralklappenprolaps-Syndrom

*Deutsche Medizinische Wochenschrift 114 (17) (1989) 678-687*

[36]

Fisher, M., Weiner, B., Ockene, I.S., Forsberg, A., Duffy, C.P., Levine, P.H.

Platelet activation and mitral valve prolapse

*Neurology 33 (1983) 384-386*

[37]

Gabrielsen, F.G.

Klinische Doppler-Echokardiographie

*Schattauer Stuttgart-New York 1988*

[38]

Galbusera, M., Zoja, C., Donadelli, R., Paris, S., Morigi, M., Beingni, A., Figliuzzi, M., Remuzzi, G., Remuzzi, A.

Fluid shear stress modulates von Willebrand factor release from human vascular endothelium

*Blood 90 (1997) 1558-1564*

[39]

Gawaz, M. (1), Neumann, F.-J., Ott, I., Schiessler, A., Schömig, A.

Platelet function in acute myocardial infarction treated with direkt angioplasty

*Circulation* 93 (1996) 229-237

[40]

Gawaz, M (2)., Fateh-Moghadam, S., Pilz, G., Gurland, H.J., Werdan, K.

Platelet activation and interaction with leucocytes in patients with sepsis or multiple organ failure

*European Journal of Clinical Investigation* 25 (1995) 843-851

[41]

Genetta, T.B., Mauro, V.F.

ABCIXIMAB: A new antiaggregant used in angioplasty

*The Annals of Pharmacotherapy* 30 (1996) 251-257

[42]

Goedel-Meinen, L.

Synkope bei ventrikulären Herzrhythmusstörungen Lown IVb und Mitralklappenprolaps

*Fortschritte der Medizin* 111 (1993); 50-52

[43]

Göhlke-Bärwolf, C., Acar, J., Oakley, C., Butchart, E., Burckhardt, D., Delahaye, J.-P.,

Horstkotte, D., Bodnar, E., Hall, R., Kremer, R., Krayenbühl, H.-P., Krzeminska-Pakula, M.,

Samama, M.

Empfehlungen zur Thromboembolieprophylaxe bei Herzklappenerkrankungen

*Zeitschrift für Kardiologie* 84 (1995) 1018-1032

[44]

Gori, E., Chiarantini, A.M., Cellai, A.P., Fedi, S., Zuppiroli, A., Favilli, S., Prisco, D., Rostagno, C.,

Gensini, G.F.

Activation of blood coagulation in patients with mitral valve prolapse and severe mitral insufficiency

*Thrombosis-Haemostasis* 74 (1995) 1386 (Nr.1863)

[45]

Gräf, P., Erbel, R., Zotz, R., Weilemann, L.S., Meyer, J.

Herzbeteiligung bei mixed connective Tissue disease (MCTD)

*Medizinische Klinik* 86 (1991) 234-236

[46]

Handrick, W., Meister, EM., Spencker, FB., Bock, K., Springer, W.

Über Staphylokokken-Endokarditis beim Mitralklappenprolaps-Syndrom

*Z.-Gesamte Innere Medizin* 43 (4) (1988) 100-2

[47]

Hanson, M.R., Conomy, J.P., Hodgman, J.R.

Brain Events Associated with Mitral Valve Prolapse

*Stroke* 11 (1980) 499-506

[48]

Helmich, P., in der Schmitten, J.

Mitralklappenprolaps - Aufgaben des Hausarztes

*Fortschritte der Medizin* 113 (17)(1995) 263-4

[49]

Herold, G.

Innere Medizin

*Gerd Herold, Köln, 1995*

[50]

Homberg, M., Tschöpe, D., Greber, H., Schwippert, B., Gries, F.A. und Mödder, U.

Opticusneuropathie bei Typ I. Diabetes und Acetylsalicylsäure-refraktärer Thrombozytenaktivierung

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 118 (1993) 290-295

[51]

Horstkotte, D. (1)

Der Mitralklappenprolaps

*Münchener Medizinische Wochenschrift* 130 (6) (1988) 65-70

[52]

Horstkotte, D. (2)

Mikrobiell verursachte Endokarditis

*Steinkopff Verlag* (1995), Darmstadt

[53]

Horstkotte, D. (3)

Erworbene Herzklappenfehler

*Urban & Schwarzenberg* (1987), München

[54]

Horstkotte, D. (4)

Endokarditisprophylaxe bei zahnärztlichen Eingriffen

*Zahnärztliche Mitteilungen* 81 (1991); 2391-2394

[55]

Horstkotte, D. (5), Hohnloser, S., Keller, F., Kolde, H.J., Müller-Beißenhirtz, W., Taborski, U.,  
Webering, F.

Empfehlung zur Einführung der Internationalen Normalisierten Ratio (INR) als objektives Maß für die  
Intensität einer oralen Antikoagulantien-Therapie

*Zeitschrift für Kardiologie* 83 (1994) 676-680

[56]

Horstkotte, D. (6), Piper, C., Schultheiß, H.-P.

Die akute infektiöse Endokarditis

*Wiener Klinische Wochenschrift* 109 (1997); 105-115

[57]

Inoue, T., Hoshi, K., Fujito, T., Sakai, Y., Morooka, S., Sohma, R.

Early detection of platelet activation after coronary angioplasty

*Coronary Artery disease* 7 (1996) 529 - 534

[58]

Janes, S.L., Kyle, P.M., Redmann, C., Goodall, A.H.

Flow Cytometric Detection of Activated Platelets in Pregnant Women Prior to the Development of Pre-Eclampsia

*Thrombosis and Haemostasis* 74 (1995) 1059-1063

[59]

Janes, S.L. (2), Wilson, D.J., Cox, A.D., Chronos, N.A., Goodall, A.H.

ADP causes partial degranulation of platelets in the absence of aggregation

*British Journal of Haematology* 86 (1994) 568-573

[60]

Jenkins, C.S.P., Elizabeth, F., Ali-Briggs, Clemetson, K.J.

Antibodies against Platelet Membrane Glycoproteins

*British Journal of Haematology* 49 (1981) 439-447

[61]

Jennings, L.K., Ashmun, R.A., Wang, W.C., Dockter, M.E.

Analysis of Human Platelet Glycoprotein IIb-IIIa and Glanzmann`s Thrombasthenia in Whole Blood by Flow Cytometry

*Blood* 68 (1986) 173-179

[62]

Jeresaty, R.M.

Etiology of the Mitral Valve Prolapse-Click Syndrome

*The American Journal of Cardiology* 36 (1975) 110-113

[63]

Johnston, G.I., Pickett, E.B., McEver, R., George, J.N.

Heterogeneity of platelet Secretion in Response to Thrombin Demonstrated by Fluorescence Flow Cytometry

*Blood* 69 (1987) 1401-1403

[64]

Jones, HR., Naggar, CZ., Seljan, MP., Downing, LL.

Mitral valve prolapse and cerebral ischemic events

*Stroke* 13 (1982) 451-453

[65]

Julien, J., Lapuyade, G., Lagueny, A., Dallochio, M., Clementy, P.

Accident vasculaire cérébral chez des sujets ayant un prolapsus de la valve mitral

*Nouv Presse Med* 7 (1978) 47

[66]

Kafka, W.

Prävalenz, therapeutische Beeinflussung und prognostische Bedeutung ventrikulärer Arrhythmien beim Mitralklappenprolapsyndrom

*Zeitschrift für Kardiologie* 74 (1985) 245-253

[67]

Kahaly, G., Erbel, R., Mohr-Kahaly, S., Zenker, G., von Olshausen, K., Krause, U., Beyer, J.

Morbus Basedow und Mitralklappenprolaps

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* 112 (7) (1987) 248-53

[68]

Kligfield, P., Levy, D., Devereux, R.B., Savage, D.D.  
Arrhythmias and sudden death in mitral valve prolapse  
*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1298-1307

[69]

Knapp, E., Abbrederis, K., Braunsteiner, H.  
Zur Problematik des Mitralklappenprolapsyndroms unter besonderer Berücksichtigung der  
Komplikationen  
*Wiener klinische Wochenschrift* 90 (1978) 603-611

[70]

Kolarov, P., Tschöpe, D., Niewenhuis, H.K., Gries, F.A., Strauer, B.E., Schultheiß, H.P.  
PTCA: Periprocedural platelet activation - Part II of the Duesseldorf PTCA Platelet Study  
*European Heart Journal* 17 (1996), 1216-1222

[71]

Kollegger, H., Schmoliner, R., Dal-Bianco, P., Oder, W., Zeiler, K., Deecke, L.  
Der Mitralklappenprolaps als Risikofaktor für den juvenilen Insult  
*Nervenarzt* 59 (11) (1988) 629-635

[72]

Kondo, C., Tanaka, K., Takagi, K., Shimono, T., Shinpo, H., Yada, I., Yuasa, H., Kusagawa, M.,  
Akamatsu, N. und Tanque, K.  
Platelet Dysfunction During Cardiopulmonary Bypass Surgery  
*ASAIO Journal* 39(1993) M550-3

[73]

Kouvaras, G., Bacoulas, G.

Association of mitral valve leaflet prolapse with cerebral ischemic events in the young and early middle-aged patient

*Quart Journal of Medicine N Ser 55 (1985) 219: 387-392*

[74]

Kücherer, H., Ratz, K., Jünger, E., Hardt, S., El-Arousy, M., Winter, R., Kübler, W.

Die Erkennung kardialer Normvarianten als Ursache zerebraler Ischämien: Bedeutung der transösophagealen Echokardiographie

*Zeitschrift für Kardiologie 85 (1996) 917-923*

[75]

Kunishima, S., Hattori, M., Kobayashi, S., Hattori, H., Iwama, Y., Ogawa, K., Naoe, T. und Ohno, R.

Activation and destruction of platelets in patients with rheumatic heart disease

*European Heart Journal 15 (1994) 335-38*

[76]

Lax, D., Eicher, M., Goldberg, S.J.

Mild dehydration induces echocardiographic signs of mitral valve prolapse in healthy females with prior normal cardiac findings

*American Heart Journal 124 (6) (1992) 1533-40*

[77]

Lebwohl, M.G., Distefano, D., Prioleau, P.G., Uram, M., Yannuzzi, L.A., Fleischmajer, R.

Pseudoyanthoma elasticum and mitral-valve prolapse

*The New England Journal of Medicine 307 (4) (1982) 228-32*

[78]

Legrand, C., Thibert, V., Dubernard, V., Bégault, B., Lawier, J.

Molekular Requirements for the Interaction of Thrombospondin With Thrombin-Activated Human Platelets: Modulation of Platelet Aggregation

*Blood 79 (8) (1992) 1995-2003*

[79]

Lesser, R.L., Heinemann, M.H., Borkowski, H., Cohen, L.S.

Mitral valve prolapse and amaurosis fugax

*Journal of Clinical Neuroophthalmology* (1981) 153-160

[80]

Levy, D., Savage, D.

Prevalence and clinical features of mitral valve prolapse

*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1281-90

[81]

Lindahl, T.L., Festin, R. und Larsson, A.

Studies of Fibrinogen Binding to Platelets by Flow Cytometry :

An Improved Method for Studies of Platelet Activation

*Thrombosis-Haemostasis* 68 (2) (1992) 221-5

[82]

Lüscher, T.F. (1)

Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion und koronare Herzkrankheit

*Schweizer Medizinische Wochenschrift* 121 (1991) 1913-22

[83]

Lüscher, T.F.(2), Scott-Burden, T., Diederich, D., Bühler, F.R.

Das Gefäßendothel als Mediator und Zielorgan kardiovaskulärer Erkrankungen

*Praxis* 77 (1988) 657-663

[84]

MacMahon, S.W., Roberts, J.K., Kramer-Fox, R., Zucker, D.M., Roberts, R.B.,

Devereux, R.B.

Mitral valve prolapse and infective endocarditis

*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1291-98

[85]

Markovitz, J.H., Roubin, G.S., Parks, J.M., Bittner, V.

Platelet activation and restenosis after coronary stenting: flow cytometric detection of wound-induced platelet activation

*Coronary Artery Disease* 7 (1996) 657-665

[86]

Marks, A.R., Choong, C.Y., Sanfilippo, A.J., Ferré, M., Weymann, A.E.

Identification of high-risk and low-risk subgroups of patients with Mitral-Valve Prolapse

*The New England Journal of Medicine* 320 (16) (1989) 1031-36

[87]

Marshall, C.E., Shappell, S.D.

Sudden Death and the Ballooning Posterior Leaflet Syndrome

*Arch. Pathol.* 98 (1974) 134-138

[88]

Martini, F., Zuppiroli, A., Gori, A., Chiarantini, E., Fedi, S., Prisco, D., Cellai, A., Boddi, V.,  
Abbate, R., Dolara, A., Gensini, G.

Platelet and Blood Clotting Activation in Patients with Mitral Valve Prolapse

*Thrombosis Research, Vol. 83 (1996), No. 4, 229-306*

[89]

Matzdorff, A.C., Kemkes-Mathes, B., Voss, R., Pralle, H.

Comparison of  $\beta$ -Thromboglobulin, Flow Cytometry, and Platelet Aggregometry to Study Platelet Activation

*Haemostasis* 26 (1996) 98-105

[90]

McMichael, A.J., Rust, N.A., Pilch, J.R., Sochynsky, R., Morton, J., Mason, D.Y., Ruan, C.,  
Tobelem, G., Caen, J.

Monoclonal antibody to Human Platelet Glycoprotein I (Immunological Studies)

*British Journal of Haematology* 49 (1981) 501-509

[91]

Metzelaar, M.J., Wijngaard, P.L.J., Peters, P.J., Sixma, J.J., Nieuwenhuis, H.K., Clevers, H.C.

CD63 Antigen

*The Journal of Biological Chemistry* 266 (1991) 3239-45

[92]

Metzelaar, M.J.(2), Clevers, H.C.

Lysosomal Membrane Glycoproteins in Platelets

*Thrombosis and Haemostasis* 68 (1992), 378-382

[93]

Metzelaar, M.J.(3), Korteweg, J., Sixma, J.J., Nieuwenhuis, H.K.

Comparison of platelet membrane markers for the detection of platelet activation in vitro and during  
platelet storage and cardiopulmonary bypass surgery

*J Lab Clin Med* 1214 (1993) 579-587

[94]

Michelson, A.D.

Flow Cytometry: A Clinical Test of Platelet Function

*Blood* 87/12 (1996) 4925-4936

[95]

Michelson, A.D.(2), Barnard, M.R., Hechtman, H.B., McGregor, H., Conolly, R.J., Loscalzo, J.,  
Valeri, C.R.

In vivo tracking of platelets: Circulating degranulated platelets rapidly lose surface P-selectin but  
continue to circulate and function

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (1996) 11877-11882

[96]

Miller, D.D., Burns, R.J., Gill, J.B., Ruddy, T.D., Felner, J.M.

Clinical Cardiac Imaging (Chapter 25: Mitral Valve Prolapse)

*MacGraw-Hill Book Company, New York-St. Louis-San Francisco 1988*

[97]

Mügge, A.

Abnorme Endothel-vermittelte Regulation des Gefäßtonus bei Arteriosklerose

*Zeitschrift für Kardiologie 83 (1994) 759-767*

[98]

Naggar, C.Z., Pearson, W.N., Seljan, M.P., Maddock, L.K., Masrof, S., Elwood, D.J.

Frequency of complications of mitral valve prolapse in subjects aged 60 years and older

*American Journal of Cardiology 58 (1986) 1209-1212*

[99]

Nieuwenhuis, H.K., Sakariassen, K.S., Houdijk, W.P.M., Nievelstein, P.F.E.M., Sixma, J.J.

Deficiency of Platelet Membrane Glycoprotein Ia Associated With a Decreased Platelet adhaesion to Subendothelium : A Defect in Platelet Spreading

*Blood 68/3 (1986) 692-695*

[100]

Niewenhuis, H.K., van Oosterhout, J.J.G., Rozemuller, E., van Iwaarden, F., Sixma, J.J.

Studies With a Monoclonal Antibody Against Activated Platelets:

Evidence That a Secreted 53,000.Molekular Weight Lysosome-like Granule Protein Is Exposed on the Surface of Activated Platelets in the Circulation

*Blood 70 (3) (1987) 838-45*

[101]

Nishibori, M., Cham, B., McNicol, A., Shalev, A., Jain, N., Gerrard, J.M.

The Protein CD 63 is in Platelet Dense Granules, is Deficient in a Patient with Hermansky-Pudlak Syndrome, and Appears Identical to Granulophysin

*Journal of Clinical Investigation* 91 (4) (1993) 1775-82

[102]

Nishimura, R.A.(1), Tajik, A.J.

Follow-up observations in patients with mitral valve prolapse

*Herz* 13 (1988) 326-334

[103]

Nishimura, R.A.(2), McGoon, M.D., Shub, C., Miller, F.A., Ilstrup, D.M., Tajik, A.J.

Echocardiographically documented mitral-valve prolapse long-term follow-up of 237 patients

*The New England Journal of Medicine* 313 (1985) 1305-1309

[104]

Orencia, A.J., Petty, G.W., Khandheria, B.K., O'Fallon, W.M., Whisnant, J.P.

Mitral valve prolapse and the risk of stroke after initial cerebral ischemia

*Neurology* 45 (1995) 1083-1086

[105]

Penning, R., Betz, P., Werdan, K.

Zur Häufigkeit eines plötzlichen Herztodes bei Mitralklappenprolaps-Syndrom

*Versicherungsmedizin* 43 (3) (1991) 83-88

[106]

Perloff, J.K., Child, J.S.

Clinical and epidemiologic issues in mitral valve prolapse

*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1324-32

[107]

Piper, C., Horstkotte, D., Wiemer, M., Schulte, H.D. & Schultheiß, H.P.

Mitralklappenprolaps und infektiöse Endokarditis : eine prospektive Studie zur Risikostratifizierung  
*Zeitschrift für Kardiologie 85 Supplement 2 (1996) 264*

[108]

Pöllmann, L., von Hehn, A., Strauer, B.E.

Mitralklappenprolaps und Kiefergelenkfunktion

*ZWR 97 (5) (1988) 418*

[109]

Pongratz, G., Pohle, K., Stingl, D., Bachmann, K.

Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenaggregation am arteriosklerotisch verändertem Endothel

*Deutsche Medizinische Wochenschrift 120 (1995) 1009-1014*

[110]

Pongratz, G. (2), Brandt-Pohlmann, M., Hennecke, K.-H., Pohle, C., Zink, D., Gehling, G.,

Bachmann, K.

Platelet Activation in Embolic and Preembolic Status of Patients with Nonrheumatic Atrial Fibrillation

*Chest 111 (1997), 929-933*

[111]

Poole, C.J.M., Russell, R.W.R., Harrison, P., Savidge, G.F.

Amaurosis fugax under the age of 40 years

*Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry 50 (1987) 81-84*

[112]

Pyeritz, R.E., Weiss, J.L., Renie, W.A., Fine, S.L.

Pseudoxanthoma elasticum and mitral-valve prolapse

*The New England Journal of Medicine 307 (23) (1982) 1451-2*

[113]

Raffael, A. (Becton Dickinson GmbH)

Grundlagen der analytischen Durchflußzytometrie

*Zelltypisierung (1989); 178*

[114]

Rampp, T., von Essen, R.

30 Jahre Mitralklappenprolaps - was ist geblieben ?

*Fortschritte der Medizin 113 (17) (1995) 257-62*

[115]

Rauch, U., Schwippert, B., Schultheiß, H.-P., Tschöpe, D.

Platelet Activation in Diabetic Microangiopathy

- *in press* -

[116]

Chesebro, J.H., Rauch, U. (2), Fuster, V., Badimon, J.J.

Pathogenesis of thrombosis in coronary artery disease

*Haemostasis 27-suppl.1 (1997) 12-8*

[117]

Rauch, U. (3), Schwippert, B., Piolot, R., Ziegler, D., Schultheiß, H.-P., Tschöpe, D.

Zirkulierende Thrombozyten-Leukzyten-Aggregate und Thrombozytenaktivierung bei diabetischer kardialer autonomer Neuropathie

*Zeitschrift für Kardiologie 1. Supplementband 1997, Abstract 29*

[118]

Reininger, C.B., Reininger, A.J., Steckmeier, B., Lasser, R., Schweiberer, L.

Gesteigerte prä- und postoperative Thrombozyten-Aktivität bei gefäßchirurgischen Patienten

*Vasa 23 (3) (1994) 217-27*

[119]

Reuter, H.D., Kux, A.

Thrombozytenaktivierung in vivo bei Herzpatienten

*medwelt 34 (22) (1983) 649-50*

[120]

Rhee, van F., Blecher, T.E., DeLepeleire, K.A., Galloway, N.R.

Bilateral retinal artery occlusion due to mitral valve prolapse

*British Journal of Ophthalmology 75 (1991) 436-37*

[121]

Rick, W.

Klinische Chemie und Mikroskopie

*Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 1990*

[122]

Rinder, C.S., Bohnert, J., Rinder, H.M., Mitchell, J., Ault, K., Hillmann, R.

Platelet Activation and Aggregation during Cardiopulmonary Bypass

*Anesthesiology 75 (1991) 388-93*

[123]

Rinder, H.M., Snyder, E.L., Bonan, J.L., Napychank, P.A., Malkus, H., Smith, B.R.

Activation in stored platelet concentrates: Correlation between membrane expression of P-selectin, glycoprotein IIb/IIIa and  $\beta$ -TG-release

*Transfusion 33 (1995) 25-29*

[124]

Roberts, W.C. (1)

Morphologic Features of the Normal and Abnormal Mitral Valve

*American Journal of Cardiology 51 (1983) 1005-28*

[125]

Roberts, W.C.(2), McIntosh, C.L., Wallace, R.B.

Mechanisms of severe mitral regurgitation in mitral valve prolapse determined from analysis of operatively excised valves

*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1316-23

[126]

Ruan, C., Tobelem, G., McMichael, A.J., Drouet, L., Legrand, Y., Degos, L., Kiefer, N., Lee, H., Caen, J.P.

Monoclonal Antibody to Human Platelet Glycoprotein I (Effects on Human Platelet Function)

*British Journal of Haematology* 49 (1981) 511-519

[127]

Sachs, L.

Angewandte Statistik

*Springer Verlag - Berlin, Heidelberg, New York - 4. Auflage, 1984*

[128]

Savage, D.D.(1), Garrison, R.J., Devereux, R.B., Castelli, W.P., Anderson, S.J., Levy, D.

Mitral valve prolapse in the general population - The Framingham Study

1. Epidemiologic features

*American Heart Journal* 106 (3) (1983) 571-576

[129]

Savage, D.D. (2), Devereux, R.B., Garrison, R.J., Castelli, W.P., Anderson, S.J., Levy, D.,

Thomas, H.E., Kannel, W.B., Feinleib, M.

Mitral valve prolapse in the general population - The Framingham Study

2. Clinical features

*American Heart Journal* 106 (3) (1983) 577-581

[130]

Savage, D.D.(3), Garrison, R.J., Devereux, R.B., Castelli, W.P., Anderson, S.J., Levy, D.

Mitral valve prolapse in the general population - The Framingham Study

3. Dysrhythmias

*American Heart Journal* 106 (3) (1983) 582-586

[131]

Scharf, R.E. (1)

Thrombozyten und Mikrozirkulationsstörungen

*Schattauer - Stuttgart, New York- 1986*

[132]

Scharf, R.E. (2), Hennerici, M., Bluschke, V., Lueck, J., Kladetzky, RG.

Cerebral ischemia in young patients: is it associated with mitral valve prolapse and abnormal platelet activity in vivo ?

*Stroke* 13 (1982): 454-458

[133]

Scharf, R.E. (3), Tomer, A., Marzec, U.M., Teirstein, P.S., Ruggeri, Z.M., Harker, L.A.

Activation of platelets in blood perfusing angioplasty-damaged coronary arteries. Flow cytometric detection

*Artherosclerosis Thrombosis* 12 (1992) 1475-1487

[134]

Schimkat, M., Horstkotte, D., Sundmacher, R.

Mitralklappenprolaps - Eine mögliche Ursache für retinale Gefäßverschlüsse junger Patienten

*Ophthalmologie* 90 (5) (1993) 476-478

[135]

Schrör, K. (1)

Thrombozyten

*Urban & Vogel; München 1993 (Physis: Spezial; 67)*

[136]

Schrör, K. (2)

Endotheliale Faktoren und Thrombozytenfunktion

*Zeitschrift für Kardiologie 80: Supplement 5 (1991) 3-6*

[137]

Schultheiß, H.P., Tschöpe, D., Esser, J. et al.

Large Platelets continue to circulate in an activated state after myocardial infarction

*European Journal of Clinical Investigation 24 (1994) 243-247*

[138]

Schweizer, P., Hanrath, P., Merx, W., Henning, B., Saal, M., Schaefer, P., Bleifeld, W.,  
Effert, S.

Ventrikuläre Rhythmusstörungen beim Mitralklappenprolapsyndrom

*Deutsche Medizinische Wochenschrift 104 (3) (1979) 85-89*

[139]

Schwinger, R.H.G., Böhm, M., La Rosée, K., Erdmann, E.

Existence of PAF receptors in human platelets and human lung tissue but not in the human  
myocardium

*American Heart Journal 124 (1992) 320-30*

[140]

Shapiro, B.M., Westgate, C.J., Shine, K., Donaldson, R.

Is cardiac ultrasound mandatory in patients with transient ischaemic attacks ?

*British Medical Journal 291 (1985) 786-787*

[141]

Shattil, S.J., Cunningham, M., Hoxie, J.A.

Detection of Activated Platelets in Whole Blood Using Activation-Dependent Monoclonal Antibodies and Flow Cytometry  
*Blood* 70 (1987) 307-315

[142]

Siegenthaler, W.

Klinische Pathophysiologie

*Thieme -Stuttgart; New York- 6.Auflage 1987*

[143]

Sobel, M., Salzman, E.W., Davies, G.C., Handin, R.I., Sweeney, J., Ploetz, J., Kurland, G.

Circulating Platelet Products in Unstable Angina Pectoris

*Circulation* 63 (1981) 300-306

[144]

Steele, P., Weigly, H., Rainwater, J., Vogel, R.

Platelet survival time and thromboembolism in patients with mitral-valve prolapse

*Circulation* 60 (1979) 43

[145]

Thurlow, P.J., Barlow, B., Connellan, J.M., McKenzie, F.C.

Detection of glycoprotein IIb and IIIa by monoclonal antibodies

*British Journal of Haematology* 55 (1983) 123-134

[146]

Turina, J.

Mitralklappenprolaps - praktische Bedeutung einer häufigen Diagnose

*Schweizerische Medizinische Wochenschrift* 121 (19) (1991) 671-6

[147]

Tschöpe, D. (1), Schauseil, S., Roesen, P., Kaufmann, L., Gries, F.A.

Darstellung von Thrombozytenmembranproteinen mit monoklonalen Antikörpern im durchflußzytometrischen Bio-Assay

*Klinische Wochenschrift* 66 (1988) 117-22

[148]

Tschöpe, D. (2)

Thrombozytendiagnostik mit durchflußzytometrischen Verfahren

*MTA* 6 (1991) 5: 477-83

[149]

Tschöpe, D. (3)

Diabetische Thrombozytopathie

*Verlag A. Läkamp, Osnabrück, 1993*

[150]

Tschöpe, D., (4) Schultheiß, H.P., Kolarov, P., Schwippert, B., Dannehl, K., Niewenhuis, H.K., Kehrel, B., Strauer, B.E., Gries, F.A.

Platelet Membrane Activation Markers Are Predictive for Increased Risk of Acute Ischemic Events After PTCA

*Circulation* 88 (1) (1993) 37-42

[151]

Tschöpe, D. (5) , Roesen, P., Schwippert, B., Gries, F.A.

Platelets in Diabetes : The Role in the Hemostatic Regulation in Artherosclerosis

*Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 19 (2) (1993) 122-28

[152]

*Tschöpe, D (6).*

Markeranalyse und Funktionstests an Thrombozyten

Methodenbuch „Klinische Zytometrie“ der Arbeitsgruppe Zelluläre Hämostase

*Klinische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstitutes an der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf*

[153]

Tschöpe, D. (7), Roesen, P., Esser, J., Schwippert, B., Nieuwenhuis, H.K., Kehrel, B.,  
Gries, F.A.

Large Platelets Circulate in an Activated State in Diabetes Mellitus  
*Seminars in Thrombosis and Hemostasis 17 (1991); 433-438*

[154]

Tschöpe, D. (8), Driesch, E., Schwippert, B., Nieuwenhuis, H.K., Gries, F.A.

Exposure of Adhesion Molecules on Activated Platelets in Patients with Newly Diagnosed IDDM Is  
Not Normalized by Near-Normoglycemia  
*Diabetes 44 (1995); 890-894*

[155]

*Tschöpe, D. (9), Rauch, U., Schwippert, B.  
Platelet-leukocyte cross-talk in diabetes mellitus  
Horm Metab Res, 1997, in press*

[156]

Tschöpe, D. (10), Rösen, P., Schwippert, B., Kehrel, B., Schauseil, S., Esser, J., Gries, F.A.  
Platelet Analysis Using Flowcytometric Procedures  
*Platelets I. (1990) 127-133*

[157]

Tschöpe, D. (11), Driesch, E., Schwippert, B., Lampeter, E.F.  
Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM

*Diabetologia* 40 (1997) 573-577

[158]

Tschöpe, D. (12), Schwippert, B.

Platelet Flow Cytometry - Adhesive Proteins (Chapter 27)

in : von Bruchhausen, F., Walter, U.; *Platelets and Their Factors*

*Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York* 1997

[159]

Tse, H.F., Lau, C.P., Cheng, G.

Relation between mitral regurgitation and platelet activation

*Journal of the American College of Cardiology* 30 (1997) 1813-1818

[160]

Virmani, R., Atkinson, J.B., Foremann, M.B.

The pathology of mitral valve prolapse

*Herz* 13 (1988) 215-26

[161]

Völler, H., Dißmann, R., Schröder, K., Horstkotte, D., Eule, A., Wegschneider, K., Mast, H.,

Marx, P., Schultheiß, H.-P.

Potentielle Emboliequellen im transösophagealen Echokardiogramm - prognostische Bedeutung bei

Patienten mit zerebralen Ischämien

*Zeitschrift für Kardiologie* 85 (1996) 204-213

[162]

Walsh, P.N., Kansu, T.A., Corbett, J.J., Savino, P.J., Goldburgh, W.P., Schatz, N.J.

Platelets, Thromboembolism and Mitral Valve Prolapse

*Circulation* 63 (3) (1981) 552-59

[163]

Watson, R.T.

TIA, stroke and mitral valve prolapse

*Neurology* 29 (1979) 886-889

[164]

Wehmeier, A., Tschöpe, D., Esser, J., Menzel, C., Niewenhuis, H.K., Schneider, W.

Circulating Activated Platelets In Myeloproliferative Disorders

*Thrombosis Research* 61 (1991) 271-78

[165]

Wei, J.Y., Bulkley, B.H., Schaefer, A.H.

Mitral-Valve-Prolapse Syndrome and Recurrent Ventricular Tachyarrhythmias

*Annals of Internal Medicine* 89 (1978) 6-9

[166]

Wei, J.Y. (2), Fortun, N.J.

Diastolic Sounds and Murmurs Associated with Mitral Valve Prolapse

*Circulation* 63 (3) (1981) 559-64

[167]

Weiss, A.N., Mimbs, J.M., Ludbrook, P.A., Sobel, B.E.

Echocardiographic Detection of Mitral Valve Prolapse

*Circulation* 52 (1975) 1091-96

[168]

Weiss, E.J., Bray, P.F., Tayback, M., Scschulmann, S.P., Kickler, T.S., Becker, L.C.,

Weiss, J.L., Gerstenblith, G., Goldschmidt-Clermont, P.J.

A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis

*The New England Journal of Medicine* 334 (1996) 1090-1094

[169]

Werdan, K. (1), Müller, U.

Mitralklappenprolaps und Mitralklappenprolaps-Syndrom

*Springer-Verlag -Berlin, Heidelberg, New York- 1991*

[170]

Werdan, K. (2)

Bedeutung von Herzrhythmusstörungen beim Mitralklappenprolaps-Syndrom

*Internist*, 28 (3) (1987) 175-181

[171]

Werdan, K. (3), Müller, U.

Mitralklappenprolaps und Mitralklappenprolaps-Syndrom,

*Internist*30 (8) (1989) 475-482

[172]

Werdan, K. (4)

Therapie des Mitralklappenprolapsyndroms bei Vorliegen von Kontraindikationen für  $\beta$ -Blocker

*Internist* 32 (1991); 660-661

[173]

Winkle, R.A., Lopes, M.G., Popp, R.L., Hancock, E.W.

Life-Threatening Arrhythmias in the Mitral Valve Prolapse Syndrom

*American Journal of Medicine* 60 (1976) 961-968

[174]

Wolf, P.A., Sila, C.A.

Cerebral ischemia with mitral valve prolapse

*American Heart Journal* 113 (5) (1987) 1308-15

[175]

Zenker, G., Erbel, R., Krämer, G., Mohr-Kahaly, S., Drexler, M., Harnoncourt, K., Meyer, J.

Transesophageal Two-Dimensional Echocardiography in Young Patients With Cerebral Ischemic Events

*Stroke* 19 (1988) 345-348

## ***7. Anhang***

**Veröffentlichungen von Teilergebnissen dieser Inaugural-Dissertation**

**Teilergebnisse dieser Inaugural-Dissertation wurden anlässlich der 62. Jahres-tagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung vom 11. bis 13. April 1996 in Mannheim als Poster vorgestellt.**

**Das entsprechende Abstract ist im begleitenden Supplementband der Zeitschrift für Kardiologie erschienen :**

**M. Wiemer, D. Horstkotte, T. Butz, D. Tschöpe, H.P. Schultheiß**  
**Thrombozytenaktivierung bei asymptomatischem Mitralklappenprolaps versus Mitralklappenprolapsyndrom**  
*Zeitschrift für Kardiologie 85 Supplementband 2 (1996) S. 161, Nr. 566*

**Desweiteren wurden Teilergebnisse dieser Inaugural-Dissertation anlässlich des XIX. Kongreß der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie vom 24. bis 28. August 1997 in Stockholm ebenfalls als Poster vorgestellt.**

**Das entsprechende Abstract ist im begleitenden Supplementband des European Heart Journal erschienen :**

**M. Wiemer, D. Horstkotte, T. Butz, S. Knüppel, H.-P. Schultheiß**  
**Platelet activity in patients with mitral valve prolapse (MVP) and with mitral valve prolapse syndrome (MVPS)**  
*European Heart Journal Abstract Supplement 18 (1997); 523 (P2987)*

## ***Danksagung***

Für die freundliche Vergabe der Arbeit und die umfassende Betreuung und Unterstützung möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn *Professor Dr. Dieter Horstkotte*, Direktor der Kardiologischen Klinik des Herzzentrums Nordrhein-Westfalen in Bad Oeynhausen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, bedanken.

Des weiteren möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn *Dr. Marcus Wiemer*, Oberarzt der Kardiologischen Klinik des Herzzentrums Nordrhein-Westfalen in Bad Oeynhausen, Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum, für die unermüdliche und tatkräftige Unterstützung und die wertvollen Anregungen bei der Erstellung der Arbeit bedanken.

Für weitere Mithilfe bei der Durchführung der Promotionsarbeit bedanke ich mich sehr herzlich bei *Frau Sabine Knüppel (Berlin)*, *Frau Sonnenberg (Düsseldorf)* und *Frau Dr. U. Rauch (New York)*.

Herzlicher Dank gebührt abschließend meinen Eltern und meiner Familie die durch vielfältige Unterstützung während meines Studiums und während der Erstellung dieser Arbeit diese erst möglich gemacht haben.

# ***LEBENS LAUF***

**Thomas Butz**

**Fürker Str. 75**

**42697 Solingen**

- 26.12.1970 Geburt in Hilden  
Vater : Vorsitzender Richter am Landgericht Dr. Horst Butz  
Mutter: Hausfrau Rosita Butz geb. Mattern
- 1977-1981 Besuch der städtischen Gemeinschaftsgrundschule Hilden
- 1981-1983 Besuch des Helmholtz-Gymnasiums in Hilden
- 1983-1990 Besuch des Humboldt-Gymnasiums in Solingen
- 1990-1991 Zivildienst beim Malteser-Hilfsdienst e.V. in Solingen  
Ausbildung zum Rettungssanitäter
- 1991 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
- Ärztliche Vorprüfung Frühjahr 1994
1. Staatsexamen Frühjahr 1995
  2. Staatsexamen Frühjahr 1997
  3. Staatsexamen Frühjahr 1998
- Abschluß des Studiums mit der Gesamtnote „Gut“
- 1.07.1998 Beginn der Tätigkeit als Arzt im Praktikum  
in der kardiologischen Abteilung des  
St. Vincenz-Krankenhaus Essen  
Chefarzt: Dr. R. Jacksch
- 1.02.2000 Tätigkeit als Assistenzarzt in der Kardiologische Klinik  
des Herzzentrum NRW Bad Oeynhausen,  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. D. Horstkotte

Thomas Butz

## EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich versichere hiermit, dass ich die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe verfaßt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Die Dissertation wurde nicht an einer anderen Fakultät vorgelegt oder von dieser abgelehnt.

Thomas Butz

Thomas Butz

Solingen, den 13.08.99

## **EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG II.**

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass gegen mich keine gerichtlichen Vorstrafen einschließlich noch anhängiger staatsanwaltschaftlicher Ermittlungsverfahren und Disziplinarverfahren vorliegen.

A handwritten signature in black ink that reads "Thomas Butz". The signature is written in a cursive style with a prominent initial 'T'.

Thomas Butz

Solingen, den 13.08.1999

