

I. Zusammenfassung

Phospholipidantikörper sind eine heterogene Familie von Autoantikörpern, die mit verschiedenen Phospholipiden und/oder Phospholipid-bindenden Proteinen interagieren. Sie sind so gesehen Autoantikörper vom Typ IgG, IgM, oder IgA, welche gegen Phospholipid-Protein Komplexe, die entweder als Antikardiolipinantikörper oder als Lupus Antikoagulans erfasst werden, gerichtet sind (¹Levine 2002). Phospholipidantikörper können primär oder sekundär im Rahmen von Kollagenosen, Infekten, oder medikamentös induziert vorkommen und sind mit venösen und arteriellen Thromboembolien, rezidivierenden Aborten und Thrombozytopenie assoziiert (²Love 1990, ³Khamashta 1995, ⁴Fijnheer 1996,). In ca. 5-15% sind Thrombosen mit Phospholipidantikörpern verknüpft (⁵Simioni 1996, ⁶Mateo 1997) und gehen mit einem ca. 10fach erhöhten Thrombose-Risiko einher (⁷Ginsberg 1995).

Die zur Bildung von Phospholipidantikörpern führenden pathogenetischen Mechanismen und ihre Bedeutung als thrombophiler Risikoindikator sind bisher nicht geklärt. Mögliche Erklärungen finden sich in einer erworbenen Protein C Resistenz oder einer Beeinträchtigung antikoagulatorischer Funktionen und Störungen der Thrombozyten-Endothelzell-Interaktionen unter Einbeziehung des Protein C-/S-Systems (⁸Oosting 1993), Prothrombin (⁹Fleck 1988) Beta-2-Glycoprotein I (¹⁰Bevers 1990) und Annexin (¹¹Roubey 1996).

Wir untersuchten daher ein Kollektiv (N=746) von Gesunden und von Patienten mit venösen und arteriellen Thrombosen unterschiedlicher Gefäßlokalisation auf erhöhte Phospholipidantikörper-Titer und mögliche Interaktionen mit Parametern der Hämostase und genomisch analysierbarer Risikoindikatoren der Thrombophilie.

Zum Nachweis der Phospholipid-Antikörper wurde das Testkitt COLIZA[®] Anti-Cardiolipin der Firma Chromogenix benutzt, ein enzymimmunologischer Test (ELISA) der zur Bestimmung von IgG und IgM Anti-Cardiolipin-Antikörper in menschlichem Serum oder Plasma dient.

Die Datenerfassung erfolgte mittels Microsoft Access XP, die statistische Auswertung mittels SPSS Student Version 12.0.

Es zeigte sich erwartungsgemäß (¹²Sanmarco 2007), dass bei thromboembolischen Ereignissen im venösen Gefäßsystem, vor allem aber auch bei Lungenembolien,

erhöhte Phospholipid-Antikörper vermehrt nachweisbar waren. Bei arteriellen thrombotischen Ereignissen ließen sich deutlich seltener Phospholipid-Antikörper nachweisen.

Weder für das Alter noch für das Geschlecht ergaben sich signifikante Unterschiede. Der Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper ist signifikant häufig mit einer Einflussnahme auf das exogene und endogene Gerinnungssystem verbunden. Auffällig war, dass die Einflussnahme von Phospholipid-Antikörpern auf das exogene Gerinnungssystem unwesentlich seltener gegeben war, als auf das endogene Gerinnungssystem.

Bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper fanden sich in unserem Kollektiv weder signifikant erhöhte, noch erniedrigte Thrombozytenzahlen. Die Thrombozyten scheinen daher im Verbund mit Phospholipid-Antikörpern keine vordergründig bedeutsame Rolle zu spielen.

Auch erhöhte Homocysteinserumwerte fanden sich nicht signifikant häufiger bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern, obwohl die Bedeutung des Serumhomocysteins bei Patienten mit thrombotischen Komplikationen heutzutage kontrovers diskutiert wird.

Geht man hypothetisch davon aus, dass Phospholipid-Antikörperkomplexe über Thrombomodulin endothelial an Heparane gebunden werden, so könnte man von einem vermehrten Verbrauch an Thrombomodulin im Rahmen der Komplexbildung ausgehen. Eine Reduktion der Adhäsionsproteine war jedoch nicht mit erhöht nachgewiesenen Phospholipid-Antikörper-Titern verbunden.

Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern (insbesondere IgG) weisen signifikant häufiger eine erniedrigte Protein C Aktivität/Konzentration auf, als Gesunde. Dies gilt auch für reduzierte Protein S-Konzentrationen. Erklärbar ist dies dadurch, dass Phospholipid-Antikörper-Komplexe zu einem vermehrten Abbau von Protein C/S führen, sodass aus einer geringeren Einflussnahme von aktiviertem Protein C/S auf den aktivierten Faktor V und VIII eine gesteigerte Thrombingeneration abgeleitet werden kann (¹³Vlachoyiannopoulos 2007). In diesem Pathomechanismus könnte man eine Schlüsselfunktion in der Thrombogenese von Patienten mit erhöht nachgewiesenen Phospholipid-Antikörpern sehen.

Neben Interaktionen mit Parametern der plasmatischen Gerinnung und primären Hämostase wurden auch Fibrinolyseparameter überprüft. Eine verminderte fibrinolytische Aktivität wurde zwar in einzelnen Fällen beschrieben (¹⁴Francis 1988),

doch sprechen unsere Ergebnisse eher nicht für eine Mitbeteiligung des Fibrinolyse-Systems.

Molekulargenetisch analysierbare, abnorme thrombophile Marker (Faktor V Mutation Typ Leiden; Prothrombin G 20210A Mutation) fanden sich nicht häufiger bei Personenkreisen, bei denen Phospholipidantikörper erhöht messbar waren, als bei Gesunden.

Veränderungen rheologischer Messgrößen (z.B. Erythrocytenaggregationsindex, Plasmaviskosität) waren nicht häufiger im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern zu beobachten. Die Blutfluidität und die Erythrozytenverformbarkeit scheint daher durch die Präsenz von Phospholipid-Antikörper nicht beeinflusst.

Phospholipid-Antibodies

– Interaction with the hemostatic system –

Summary

Phospholipid antibodies represent a heterogeneous group of auto-antibodies interacting with variant phospholipids and/or phospholipid binding proteins. These kind of phospholipid protein complexes (type IgG, IgM, or IgA antibodies) are summarized as e.g. anticardiolipin antibodies and/or lupus anticoagulants (¹Levine 2002). The development of phospholipid antibodies either occur primarily, or secondarily related with infectious diseases, collagenoses, or are drug induced.

Rather often they are associated with venous and arterial thrombotic complications, recurrent abortion and decrease of platelet counts (²Love 1990, ³Khasmashta 1995, ⁴Fijnheer 1996). In about 5 to 15% thromboses are correlated with increased levels of phospholipid antibodies (⁵Simioni 1996, ⁶Mateo 1997). An up to 10fold increase of thrombophilic risk seems to be associated with elevated phospholipid antibodies (⁷Ginsberg 1995).

The pathogenetic mechanisms as well as its relevance in the broad field of thrombophilia is to date rather unknown. Possible interaction are thought to exist between protein C resistance, protein C/S (⁸Oosting 1993), prothrombin (⁹Fleck 1988), Beta-2-Glycoprotein I (¹⁰Bever 1990) and Annexin (¹¹Roubey 1996) and/or interactions with platelets and the endothelium of the vessel walls.

We analyzed phospholipid antibodies at 746 healthy people and patients with venous/arterial thrombotic diseases with various localizations und hypothetical interactions with the hemostatic system including gene variants of routinely tested thrombophilic risk variables.

Phospholipid antibodies were measured by COLIZA test-kit (Chromogenix®), an enzyme immunologically based assay for IgG and IgM anticardiolipin antibodies in plasma/serum. Data were documented using microsoft access XP and statistically analyzed by SPSS (student version 12.0).

Elevated phospholipid antibodies were – as expected (¹²Sanmarco 2007) – predominantly found in patients with venous thrombosis and pulmonary embolism whereas they were rarely found at patients with arterial thrombotic complications.

Neither gender nor increased age did show a significant influence on the occurrence of increased phospholipid antibodies. Phospholipid antibodies took influence on the endogenous as well as the exogenous coagulation system without any preference of one of each other.

People with increased levels for phospholipid antibodies did not demonstrate any influence on platelet counts hypothetically implicating a minor role on platelets.

In addition no relationship between increased phospholipid antibodies and homocysteine in serum could be registered despite controversy exists to date about the clinical importance of homocystein in vascular diseases.

Phospholipid antibodies binding with thrombomodulin on endothelial heparansulfate might consume thrombomodulin by forming complexes. But there was no reduction of adhesion molecules correlated with high titers for phospholipid antibodies .

Thrombotic patients with increased phospholipid antibodies demonstrated significantly more frequent reduction of protein C and protein S than healthy human beings, - which might implicate this interaction to be lead to more excessive thrombin generation (¹³Vlachoyiannopoulos 2007). This might represent at least an explanation of the thrombophilic risk of such patients.

Besides interactions of phospholipid antibodies with the blood coagulation system and platelets we also investigated the fibrinolytic system. Reduced fibinolytic activity is reported in some cases (¹⁴Francis 1988); thus our results implicate a less serious influence of phospholipid antibodies with the fibrinolytic system.

Genetically analyzed thrombophilic risk variables (factor V type Leiden, mutant prothrombin gene "G20210A") were not significantly more often found in people with or without elevated phospholipid antibodies.

Abnormal rheologic parameters, e.g. erythrocyte aggregation index, or plasma viscosity were also not significantly correlated with high titers for phospholipid antibodies. Blood fluidity and erythrocyte deformability seem to be uninfluenced by the presence of phospholipid antibodies.

II. Einleitung

1. Phospholipid-Antikörper

1.1 Allgemeines

Phospholipid-Antikörper können als erworbene thrombophile Risikoindikatoren der plasmatischen Gerinnung erachtet werden. Ihr Wirkmechanismus ist jedoch nicht eindeutig geklärt. Oftmals werden erhöhte Phospholipid-Antikörperspiegel im Blut auch spontan und ohne erkennbare Grundkrankheit gefunden (¹⁵Vila 1994, ¹⁶Schved 1994). Es sind Immunglobuline vom Typ IgG, aber auch IgM und selten auch IgA-Antikörper bekannt. Sie bilden mit bestimmten Proteinen Komplexe, die an negativ geladene Phospholipide binden können (¹⁷Galli 2003). Wichtig ist aber auch die Komplexbildung mit Prothrombin und damit die Verbindung zum Prothrombinasekomplex und die Bindung an β_2 -Glykoprotein I (⁸Oosting 1993). Eine allgemein anerkannte Klassifikation existiert bislang nicht, wenngleich sich zwei Gruppen von Antikörpern in ihrer klinischen Bedeutung abgrenzen lassen. Hierbei handelt es sich um:

- Antikardiolipin-Antikörper bzw. Anti- β_2 -Glykoprotein-I-Antikörper, und
- Lupusantikoagulanzen bzw. Antithrombin-Antikörper

Die Phospholipidantikörper werden in GPL-Einheiten (GPL = IgG-Antikörper gegen Phospholipide) bzw. MPL-Einheiten (MPL = IgM-Antikörper gegen Phospholipide) ausgedrückt. Ganz allgemein gilt, je höher die Phospholipidantikörper-Titer sind, um so eher ist mit klinischen Komplikationen im Sinne eines Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom zu rechnen. Bei Patienten mit Kollagenosen, Vaskulitiden, lymphoproliferativen Erkrankungen und Malignomen werden gehäuft Phospholipidantikörper gefunden (¹⁸Triplet 1995). Sie können aber auch nach Arzneimittelexposition entdeckt werden (Phenothiazin, Thiazide, Procainamid, Hydralazin, Captopril, Chinin, Chinidin u.a.) sowie familiär gehäuft auftreten (¹⁹Bick 1999). Auch in Folge von Infektionen (viral, bakteriell, Pilze, sowie *Treponema pallidum*, oder Malaria-Plasmodien) können Phospholipidantikörper vorkommen (¹⁹Bick 1999).

1.2 Antikardiolipin-Antikörper

Antikardiolipin-Antikörper waren schon lange vor der Beschreibung des Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom als Indikator für die Lues bekannt. Ein alkoholischer Extrakt aus dem Rinderherzen, Kardiopipin (²⁰Pangborn 1942), ist Bestandteil der Wassermann-Reaktion (²¹Wassermann 1906) und findet auch Anwendung in dem sog. VDRL-Test (Venereal Disease Research Laboratory, USA). Nachdem erwiesen war, dass verschiedene Individuen in dem Test positiv reagierten, obwohl sie keine Lues hatten, konnte in systematisierten Untersuchungen gezeigt werden, dass besonders Patienten mit Autoimmunerkrankungen, speziell mit systemischen Lupus erythematodes, Antikardiolipin-Antikörper (²²Conley 1952) aufwiesen. Einen Aufschwung erfuhr die Diagnosestellung durch den Nachweis von Antikardiolipin-Antikörper mittels RIA/ELISA-Technik Anfang der 80er Jahre (²³Harris 1983 und ²⁴Harris 1986). In diesem System ist auch Kardiopipin das Antigen, das als „target“ für Patientenantikörper dient. Neben Kardiopipin wurden weitere anionische Phospholipide, wie das Phosphatidylcholin, und Phosphatidylserin als Antigene entdeckt.

1.3 Lupus-Antikoagulanzen

Der Begriff Lupus-Antikoagulanzen wurde zwischen den 50er Jahren (¹⁷Conley und Hartmann 1952) und den 70er Jahren (²⁵Feinstein und Rapaport 1972) geprägt, nachdem sie diesen Inhibitor bei Lupus-Patienten festgestellt hatten. Es zeigte sich jedoch bald, dass der Nachweis einer Lupus-Antikoagulanzen nur ganz selten zu Blutungen Anlass gab, sondern vielmehr überwiegend zu Thrombosen führte (²⁶Bowie 1963, ²⁷Triplett 1988 und ²Love 1990). Das Lupus-Antikoagulanzen ist ein Antikörper, der gegen negativ geladene Phospholipide gerichtet ist, die im plasmatischen Gerinnungsablauf notwendig sind. Auf der Thrombozytenoberfläche wird Plättchenfaktor III, ein negativ geladenes Phospholipid, exprimiert. Dieser ist die Matrix, auf welcher Gerinnungsfaktoren der plasmatischen Gerinnung agieren, indem sie miteinander einen multimolekularen Komplex, den sog. Prothrombinaktivator-komplex (Prothrombinasekomplex) bilden. Gegen diesen Komplex ist das Lupus-Antikoagulanzen gerichtet. Der phospholipidsensitivste, in der täglichen Routine Anwendung findende Globaltest der plasmatischen Gerinnung ist die aPTT. Es kommt zur Verlängerung aller phospholipidabhängigen Gerinnungstests, insbesondere der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und der „Russell's

viper venom time" (²⁹Brandt 1995). Bestimmt man die Gerinnungsfaktoraktivitäten, so findet man jedoch Normalwerte. Einschränkend muss jedoch hier angemerkt werden, dass die unterschiedlichen aPTT-Reagenzien auch unterschiedlich Lupusantikoagulans-sensitiv sind (²⁹Brandt 1995). Auch die Prothrombinzeit nach Quick wird - in Abhängigkeit vom Testreagenz - in 30-50% verlängert. Diese Beobachtung ist wichtig, weil es bei Patienten mit Lupus-Antikoagulanz und Thrombosen Probleme in der therapeutischen Einstellung mit oralen Antikoagulantien geben kann.

1.4 Pathomechanismus

In Zusammenhang mit dem Nachweis erhöhter Phospholipidantikörper wird eine u.a. auch eine Aktivierung von Thrombozyten diskutiert. Hiermit lässt sich sowohl eine Thrombozytopenie (vermehrte Aggregatbildung von Plättchen), und das Auftreten von (insbesondere) arteriellen Thromboembolien erklären (³⁰Pierangeli 2004). Phospholipidantikörper stimulieren die thrombozytäre Thromboxanbildung und die thrombininduzierte Plättchenaktivierung. Endothelzellalterationen können auch durch die Interaktion von Phospholipidantikörpern mit den Phospholipiden der Endothelzellmembran hervorgerufen werden, wodurch es zu einer vermehrten endothelialen Adhäsion von Thrombozyten (und letztlich auch Thrombozytenaggregation) kommt. Weiterhin wird durch Immunglobulinfraktionen des Lupus-Antikoagulanz die Freisetzung von Prostazyklin aus dem Endothel gehemmt und die endotheliale Gewebefaktorproduktion erhöht (³¹Watson 1991). Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Phospholipidantikörper gegen einen Proteinphospholipidkomplex gerichtet sind, wobei die Proteinfraction als Kofaktor fungiert. Identifiziert werden konnte β 2-Glykoprotein-I, welches eine hohe Affinität zu anionischen Phospholipiden aufweist. Andere Kofaktoren sind Prothrombin, Protein C, Protein S, Annexin V, hoch- und niedrigmolekulares Kininogen und Platelet Activating Factor (³²Triplett 2002).

1.5 Erhöhte Phospholipid-Antikörper

- Es soll eine familiäre Disposition für das Entstehen von Phospholipid-Antikörper-Syndromen geben (³³Weber 2000).
- Die Inzidenz der Phospholipid-Antikörperspiegel soll im Alter zunehmen.
- Phospholipid-Antikörperspiegel werden im Blut spontan ohne erkennbare Grundkrankheit (klinisches Korrelat) gefunden (¹⁵Vila 1994, ¹⁶Schved 1994).
- Phospholipid-Antikörper treten im Rahmen von Infektionen auf. Sie werden neben allgemeinen Infekten unter anderem auch bei HIV oder HCV beobachtet (¹⁹Bick1999, ³⁴Leroy 1998).
- Bei Autoimmunerkrankungen, insbesondere dem Systemischen Lupus erythematoses, aber auch bei der rheumatoiden Arthritis, dem Sjögren-Syndrom bzw. der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura kommen erhöhte Phospholipid-Antikörper Titer vor (¹⁹Bick1999).
- Berücksichtigt werden muss auch eine in den verschiedenen Testverfahren auftretende Variabilität, innerhalb und untereinander (³⁵Kutteh 2004).

1.6 Lokalisation

- Vordergründig koinzidierend mit dem Nachweis von Phospholipid-Antikörpern sind Verschlüsse im venösen thrombotischen Gefäßsystem, es werden aber auch arterielle Gefäßverschlüsse beobachtet (³⁶Neville 2003).
- Eine besondere Problematik des Phospholipid-Antikörper-Syndroms ist der Abort ("fetal loss") mit in der Schwangerschaft erhöhten Antikardiolipin-Antikörper-Spiegel insbesondere vom Typ IgG.
- Weiterhin können erhöhte Phospholipid-Antikörper-Titer bei kardialen (KHK), cerebralen (TIA), renalen (Mikroangiopathie) und Erkrankungen der Haut (Livedo reticularis) und weiteren Lokalisationen beobachtet werden (³⁷Cervera 2002).

2. Klinische Aspekte

2.1 Thrombophilie

Unter der Thrombophilie wird eine vermehrte Thromboseneigung durch eine Störung des Gleichgewichts zwischen gerinnungsfördernden und gerinnungshemmenden Faktoren zugunsten ersterer, oder auch eine Störung des Gleichgewichts zwischen fibrinbildenden und fibrinolytischen Aktivitäten verstanden. Venöse und arterielle Thrombosen bilden das Leitsymptom der Thrombophilie.

Phospholipid-Antikörper gelten als thrombophiler Risikoindikator, der mit dem klinischen Bild einer Thrombophilie einhergeht. Weitere Risikoindikatoren sind Protein-C-/S, AT III, Fibrinogen, Plasminogen, Gewebe-Plasminogenaktivator (t-PA), und Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI). Aber auch die heutzutage bestimmbar genomischen Marker der Thrombophilie wie insbesondere die mit einer Protein C-Resistenz assoziierte Faktor-V-Leiden-Mutation spielt eine gewichtige Rolle in der modernen Thrombophilie-Diagnostik. Der Stellenwert von Homocystein ist weitestgehend unklar bzgl. seiner Bedeutung bei thrombotischen Erkrankungen, zumal auch diskrepante Untersuchungsbefunde hierzu vorliegen.

Neben den z.T. hereditär, teilweise aber auch erworbenen Gerinnungsstörungen, stellen, Operationen, Traumata, Immobilisation, Schwangerschaft, hämatologische Systemerkrankungen/Tumore, aber auch Adipositas und fortgeschrittenes Lebensalter ein erhöhtes thrombembolisches Risiko dar (³⁸Hach-Wunderle 2005).

2.2 Phospholipid-Antikörper-Syndrom

Der Ausdruck "Phospholipid-Antikörper-Syndrom" wurde unter anderem von Asherson und Hughes geprägt (^{39/40}Asherson 1988). Im weiteren Verlauf wurde zunächst zwischen einem primären und einem sekundären Phospholipid-Antikörper-Syndrom unterschieden (⁴¹Asherson 1994, ⁴²Vianna 1994)

- Beim primären Phospholipid-Antikörper-Syndrom läßt sich eine dem "Laborphänomen" zugrunde liegende Erkrankung ausschließen.
- Das sekundäre Phospholipid-Antikörper-Syndrom ist mit Autoimmunerkrankungen aus dem Formenkreis der Kollagenosen, und hier im Speziellen mit dem systemischem Lupus erythematoses (SLE), aber auch Vaskulitiden eng vergesellschaftet.

dann aber auch

- von einer intermediären Gruppe von Patienten gesprochen (⁴³Weber 1999) und
- unter ergänzenden Kriterien von einem „katastrophalen Phospholipid-Antikörper-Syndrom“ (⁴⁴Asherson 2003, ⁴⁵Erkan 2004).

Inzwischen distanzieren sich immer mehr Gruppen von einer kategorischen Einteilung, die unter anderem auch für die Validierung der Sapporo Kriterien (⁴⁶Wilson 1999) von Lockshin (⁴⁷Lockshin 2000) benutzt wurde, und sprechen von einem einheitlichem Phospholipid-Antikörper-Syndrom (⁴⁸Harris 2004, ⁴⁹Miyakis 2006).

Laboranalytisch ist das Phospholipid-Antikörper-Syndrom durch eine Thrombozytopenie, das Auftreten von Phospholipid-Antikörpern gegen anionische Phospholipide (Kardiolipin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, oder deren Kofaktoren β_2 -Glykoprotein I und Prothrombin, sowie durch das Lupus-Antikoagulanze) gekennzeichnet (⁵⁰Barbui 1997).

Einen hohen Stellenwert haben hierbei vor allem Antikörper gegen das β_2 -Glykoprotein I (⁵¹De Groot 2005).

3. Komponenten der Hämostase

Nachfolgend sind nochmals wichtige Komponenten/Parameter des Hämostasesystems und deren Funktion tabellarisch aufgeführt (⁵²Barthels).

Tabelle 1: Relevante Substanzen der Gefäßwand und des Gewebes

Substanz	Funktion
Kollagen	Adhäsion und Aggregation der Plättchen
Prostaglandine Endprodukt: Prostacyclin	Hemmung der Plättchenaggregation
Heparane (Heparansulfat)	Antikoagulation am Endothel
Thrombomodulin	Kofaktor von Thrombin zur Aktivierung von Protein C
Von-Willebrand-Faktor	Bindeglied zwischen Subendothel und Plättchen, Trägerprotein für Faktor VIII, Faktor-VIII-Protektion (vorzeitiger Abbau)
Gewebefaktor (Tissue Factor)	Aktivierung des extrinsischen Systems durch Komplexbildung mit Faktor VII
t-PA (Tissue-type Plasminogen Activator)	Fibrinolyseaktivator
PAI (Plasminogen Activator Inhibitor)	Fibrinolyseinhibitor

Tabelle 2: Relevante Komponenten der Thrombozyten

Komponente	Funktion
Rezeptor GP IIb/IIIa bzw. Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$	Bindung von Fibrinogen und Von Willebrand Faktor
Rezeptor GP Ib/IX/ V	Bindung des Von Willebrand Faktors
Phospholipidschicht	Bindung von Gerinnungsfaktoren, insbesondere Prothrombinkomplex, Faktor V, Faktor VIII
Prostaglandine-Endprodukt: Thromboxan	Plättchenaggregation

Tabelle 3a: Prokoagulatorische Substanzen des Gerinnungssystems

Substanz	Funktion
Fibrin(ogen)	Substrat für Thrombin, Bildung des Wundverschlusses
Thrombin	Enzym, das Fibrinogen zu Fibrin spaltet
Faktoren II, VII, IX, X, XI, XII	Proenzyme der Serinproteasen
Faktoren V, Faktor VIII, Tissue Factor	Akzeleratoren der Gerinnung
Phospholipide (Zellmembranen)	"Bindeglied zwischen primärer und sekundärer Hämostase"
Faktor XIIIa	Stabilisiert Fibrin

Tabelle 3b: Enzymkomplexe

Komponente	Funktion
VIIa-TF-Komplex (VIIa, Tissue Factor, Ca ²⁺ , Phospholipide)	Initiatorkomplex der Gerinnung in-vivo – Aktivierung von Faktor X (exogene Tenase)
Tenase-Komplex (Faktor IX, VIII, Ca ²⁺ , Phospholipide)	Aktivierung von Faktor X = engl. „Ten“ (endogene Tenase)
Prothrombinasekomplex (Faktor X, Faktor V, Ca ²⁺ , Phospholipide)	Aktivierung von Prothrombin

Tabelle 4: Inhibitoren der Gerinnung

Inhibitor	Enzym/Substrat
Antithrombin	Thrombin, Faktor Xa, aber auch Faktor IXa, Faktor XIa, Faktor XIIa, Plasmin und Trypsin
Protein C und Protein S	aktivierte Faktoren Va und VIIIa
TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor)	vor allem Faktor Xa und Faktor-VIIa-Thromboplastin-Komplex
α_2 -Makroglobulin	Thrombin, Plasmin, Kallikrein, Leukozytenelastase
C1-Inaktivator	Komplementsystem; inhibiert außerdem die Faktoren XIa, XIIa, Kallikrein
Protein-C-Inhibitor (PAI-3)	aktiviertes Protein C, Faktor Xa, Trypsin und Chymotrypsin

Tabelle 5: Fibrinolyseaktivatoren und Inhibitoren

Substanz	Funktion
t-PA (tissue-type Plasminogen Activator)	Aktivator von Plasminogen zu Plasmin
Plasmin	Enzym, das Fibrin(ogen) zu löslichen Spaltprodukten abbaut
Plasmininhibitor	inaktiviert freies Plasmin im Blut
PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor)	inaktiviert t-PA
TAFI (Thrombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor)	Enzym, das Fibrin vor vorzeitiger Lyse schützt und daher zusätzlich stabilisiert

4. Hypothesen und Gliederung

Der Pathomechanismus der Phospholipid-Antikörper und ihre Bedeutung bei klinisch symptomatischen Patienten, aber auch bei isoliertem Nachweis ohne klinisches Korrelat, ist bis heute weitgehend ungeklärt.

Ziel dieser Arbeit war es daher, mögliche Interaktionen von Phospholipidantikörpern mit Parametern der plasmatischen Gerinnung, des Fibrinolysesystems, Thrombozyten (-funktion), rheologische Messgrößen, und genomisch analysierbarer Risikoindikatoren zu prüfen.

Wir erstellten hierfür retrospektiv zwei Gruppen aus einem Kollektiv von Patienten und Gesunden, bei denen im Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar im Rahmen eines Thrombophilie-Screenings auch ein Screening auf Phospholipidantikörper erfolgt war.

- Gruppe I: Personen mit erhöhten Phospholipidantikörper
- Gruppe II Personen ohne erhöhten Phospholipidantikörper

Anschließend wurden diese Gruppen unter Berücksichtigung der gängigen Literatur auf Auffälligkeiten von klinischen, insbesondere aber auch serologischen Parametern untersucht.

III. Methodik

1. Datenerfassung und Statistik

1.1 Studienbeurteilung, Studieneigenschaft und Studientyp

Nach den Grundprinzipien der Qualitätssicherung von klinischen Studien erfolgte retrospektiv über einen Zeitraum von 5 Jahren eine Auswahl der in der hämostaseologischen Ambulanz des Instituts für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes Homburg/Saar untersuchten Patienten und deren gesunden Familienangehörigen sowie von gesunden Frauen, bei denen vor Einnahme oraler Kontrazeptiva, oder geplanter Schwangerschaft das thrombophile Risiko überprüft werden sollte.

Im Rahmen dieses Projekts wurden in einer Fall-Kohorten-Studie 746 Individuen in einem Thrombophilie-Screening erfasst und auf Phospholipid-Antikörper im Blut untersucht. Der für die Berechnungen notwendige Stichprobenumfang wurde mit $n = 650$ unter Berücksichtigung von Mittelwert und Standardabweichung für PLA-IgG berechnet und zwei Vergleichs-Gruppen gebildet.

- Gruppe I: Personen mit erhöhtem Phospholipidantikörper-Titer (PLA-IgG)
- Gruppe II Personen ohne erhöhten Phospholipidantikörper-Titer

Unter Berücksichtigung von Beobachtungsgleichheit, Strukturgleichheit, Repräsentativität und Verallgemeinerungsfähigkeit wurden zur Ermittlung der Daten ein Studienprotokoll und Fragebögen verfasst, welche definierten Ein- und Ausschluss-Kriterien und einer Prüfung auf Vollständigkeit beinhalteten.

- **Ausgeschlossen** wurden Patienten mit einer Lebersynthesestörung oder einer schweren Niereninsuffizienz, Patienten mit Katheterthrombosen oder einer Reisthrombose und Patienten mit einer Sepsis bzw. Verbrauchskoagulopathie assoziierten thrombotischen Komplikation. Abnorme Infektmarker (CRP, BSG, Leukozyten-/Neutrophilenzahl) sowie erhöhte

Thrombingenerationsmarker (TAT, D-Dimere) zum Zeitpunkt der Untersuchung galten als Ausschlusskriterium.

- **Einbezogen** wurden Patienten mit postoperativen, traumatisch bedingten, infekt- und Tumor assoziierten Thrombosen, sowie Immobilisations- und schwangerschaftsassozierte Thrombosen, wie auch sog. Spontanthrombosen (Thrombosen ohne klinische Plausibilität). Sowohl venöse wie arterielle thromboembolische Komplikationen fanden in unseren Auswertungen Berücksichtigung.

In die statistischen Auswertungen miteinbezogen wurden darüber hinaus auch Parameter, die nicht integrativer Bestandteil einer hausintern standardisierten Vorgehensweise beim Thrombophilie-Screening waren, sondern im Rahmen einer erweiterten Diagnostik bestimmt wurden. Da das Patientenkollektiv sich sowohl aus venösen, wie auch arteriellen thromboembolischen Komplikationen zusammensetzte, wurden auch die konventionellen vaskulären Risikofaktoren in unser Interaktionsmodell miteinbezogen und letztlich auch eine alters- und geschlechtsspezifische Betrachtung der Ergebnisse durchgeführt.

Die Untersuchungen der Patienten erfolgte zu einem Zeitpunkt, wo eine Hämostaseaktivierung als ausgeschlossen erachtet werden durfte (in einem „klinischen steady state“) und auch infekt-assoziiierbare Einflussgrößen nicht gegeben waren. In diesem Zusammenhang wurden Thrombingenerations- und Infekt-Marker“ geprüft.

Die Analysen und deren Bewertung erfolgte unter Berücksichtigung eines Zentrumeffektes, der bei Auswahl einer Kohorte an einem hämostaseologischen Institut mit Sicherheit gegeben ist.

1.2 Computer gestützte Datenerfassung

Die Daten wurden mittels einer eigens entworfenen Eingabemaske in Microsoft Office Access erfasst (Abb. 1).

Abbildung 1: Microsoft Office Access Datenerfassung

The screenshot shows a Microsoft Office Access data entry form with the following fields and options:

- Anamnese** (selected tab):
 - Risikofaktoren:
 - Nikotin
 - Östrogene
 - Hypertonie
 - Diabetes mellitus
 - Hyperlipidämie
 - Hypercholesterinämie/-triglyceridämie
 - Hyperuricämie
 - R. Sonstiges:
- Prädisponierende- und Risikofaktoren** (selected tab):
 - Prädisponierende Faktoren:
 - Prädisponierende F. Sonstiges:
- Labor 1** (selected tab):
- Labor 2** (selected tab):
- erweitertes Labor 1** (selected tab):
- erweitertes Labor 2** (selected tab):

Additional fields on the right side of the form:

- erweiterte Anamnese:
 - Familienanamnese
 - Herzrhythmusstörung
 - Varikose
 - Aggregationshemmer
 - Antikoagulantien
 - Rheologika
- erweiterte Anamn. Sonstiges:
- Bemerkungen:
- (AutoWert) button

1.3 Computer gestützte Analysen

Die aus den original SPSS-Tabellen (Abb. 2) ermittelten Werte wurden in Übersichtstabellen (Abb.3) zusammengefasst und im Ergebnisteil dargestellt.

Signifikante Ergebnisse für die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,05$ im Chi-Quadrat-Test und im Mann-Whitney-U-Test wurden unabhängig ihrer damit verbundenen Interpretationsmöglichkeit/Bedeutung **fett** markiert. Eine bewertende Stellungnahme erfolgte in Form einer an jede Tabelle sich anschliessenden zusammenfassenden Bewertung.

Abbildung 2: SPSS-Vier-Felder-Tafel

		IgG Phospholipdantikörper		Gesamt
		erhöht	normal	
Lungenembolie	ja	45 (d)	110	155 (a)
	nein	97	494	591
Gesamt		143 (b)	603	746 (c)

Abbildung 3: Übersichtstabelle

<u>Tabelle:</u>				<u>Variable Y:</u>								
<u>TH01</u>				<u>Phospholipid-Antikörper</u>								
<u>Variable X:</u>	<u>Pathologisch (N)</u>			<u>Ges. (N)</u>	<u>Anzahl X und Y patholog.</u>		<u>Odds Ratio</u>		<u>Chi-Quadrat</u>		<u>Mann-Whitney-U-Test</u>	
	X	IgG	IgM	Ges.	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
Lungenembolie	155	143	21	746	45	6	2,05	∅	,000	∅	,002	,662
	a	b		c	d							

Beispiel zur Interpretation:

Untersucht wurden N=746 Fälle (c)

155 hatten eine Lungenembolie, (a)

- davon hatten 45 erhöhte Phospholipdantikörper der Klasse IgG (d)

Insgesamt waren in 143 Fällen erhöhte IgG Phospholipdantikörper nachweisbar (b)

Das in den Kreuztabellen mit "∅" gekennzeichnete Symbol lässt ursächlich folgende Erklärungsmöglichkeiten offen:

Eine statistische Kalkulation kann nicht durchgeführt werden, weil

- die erwartete Häufigkeit in einer der vier Zellen nicht mindestens 1 beträgt
- bei mehr als 20% der vier Zellen die erwartete Häufigkeit unter 5 liegt
- eine Zelle der vier Zellen gleich Null ist
- für die Berechnung der Odds Ratio die Zahl 1 im Konfidenzintervall miteingeschlossen ist

Um sich schnell einen Überblick über Risiko und signifikante Zusammenhänge/ Unterschiede machen zu können wurde eine Microsoft Exel Eingabemaske erstellt, die es ermöglicht Daten in einer Vier-Felder-Tafel eingeben zu können (Abb. 4).

Im grau markierten Bereich der Tabelle sind die Zellen veränderbar, wohingegen im weiß markierten Bereich – automatisiert – eine (Neu-) Berechnung bei sich verändernder Datenlage ergibt.

Abbildung 4: Exel-Risiko-Rechner

	Disposition vorhanden	Ereignis eingetreten		Σ
		ja	nein	
ja	a _i	b _i	g _i	
nein	c _i	d _i	h _i	
Σ	e _i	f _i	n _i	
erwartete Werte				
ja	e / n * g	f / n * g		
nein	e / n * h	f / n * h		
Disposition / Ereignis				
Maßzahlen	Wert	95%-Konfidenzintervall		
		untere Grenze	obere Grenze	
Risiko unter Disposition	$p_1 = \frac{a_i}{g_i}$	$Cl(p_1) = \exp\left(\ln(p_1) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{a_i} + \frac{1}{b_i}}\right)$		
Risiko unter Nicht-Disposition	$p_0 = \frac{c_i}{h_i}$	$Cl(p_0) = \exp\left(\ln(p_0) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{c_i} + \frac{1}{d_i}}\right)$		
Relatives Risiko	$rr = \frac{p_1}{p_0}$	$Cl(rr) = \exp\left(\ln(rr) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{b_i}{a_i * (a_i + b_i)} + \frac{d_i}{c_i * (c_i + d_i)}}\right)$		
Chance unter Disposition *	$s_1 = \frac{b_i}{g_i}$	$Cl(p_1) = \exp\left(\ln(s_1) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{a_i} + \frac{1}{b_i}}\right)$		
Chance unter Nicht-Disposition *	$s_0 = \frac{d_i}{h_i}$	$Cl(p_0) = \exp\left(\ln(s_0) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{c_i} + \frac{1}{d_i}}\right)$		
Relative Chance *	$t_1 = \frac{s_1}{s_0}$	$Cl(rr) = \exp\left(\ln(rr) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{a_i}{b_i * (a_i + b_i)} + \frac{c_i}{d_i * (c_i + d_i)}}\right)$		
Odds Ratio (Ψ)	$or = \frac{a_i * d_i}{b_i * c_i}$	$Cl(or) = \exp\left(\ln(or) \pm 1,96 * \sqrt{\frac{1}{a_i} + \frac{1}{b_i} + \frac{1}{c_i} + \frac{1}{d_i}}\right)$		
Zuschreibbares Risiko	$ar = p_1 - p_0$	$Cl(ar) = ar \pm \left(1,96 * \sqrt{\frac{p_1 * (1-p_1)}{a_i + b_i} + \frac{p_0 * (1-p_0)}{c_i + d_i}}\right)$		
Prävalenz der Disposition / Kohorte *	$q = \frac{g_i}{n_i}$	$Cl(q) = q \pm \left(1,96 * \sqrt{\frac{q * (1-q)}{n_i}}\right)$		
ätiologische Fraktion / Kohorte	$ef = \frac{q * (rr - 1)}{q * (rr - 1) + 1}$			
Prävalenz der Disposition / Fall-Kontroll *	$q = \frac{b_i}{f_i}$	$Cl(q) = q \pm \left(1,96 * \sqrt{\frac{q * (1-q)}{n_i}}\right)$		
ätiologische Fraktion / Fall-Kontroll	$ef = \frac{q * (or - 1)}{q * (or - 1) + 1}$			
* Die Formeln bzw. Konfidenzintervalle wurden selbst erstellt, die Bezifferung entspricht nicht dem Standard				

Disposition vorhanden	Ereignis eingetreten		Σ
	ja	nein	
ja	123	459	582
nein	19	145	164
Σ	142	604	746
erwartete Werte			
ja	111	471	
nein	31	133	
Disposition / Ereignis			
Maßzahlen	Wert	95%-Konfidenzintervall	
		untere Grenze	obere Grenze
Risiko unter Disposition	0,2113	0,1732	0,2579
Risiko unter Nicht-Disposition	0,1159	0,0718	0,1869
Relatives Risiko	1,8242	1,1620	2,8638
Chance unter Disposition	0,7887	0,6463	0,9623
Chance unter Nicht-Disposition	0,8841	0,5481	1,4263
Relative Chance	0,8920	0,8321	0,9563
Odds Ratio (Ψ)	2,0451	1,2183	3,4329
Zuschreibbares Risiko	0,0955	0,0363	0,1546
Prävalenz der Disposition / Kohorte	0,7802	0,7504	0,8099
ätiologische Fraktion / Kohorte	0,3914		
Prävalenz der Disposition / Fall-Kontroll	0,7599	0,7293	0,7906
ätiologische Fraktion / Fall-Kontroll	0,4426		
Chi-Quadrat-Test	0,005936565		

1.4 Statistische Tests

Prävalenz

Bezeichnet die Häufigkeit eines bestimmten Merkmals zu einem bestimmten Zeitpunkt (Punktprävalenz) oder innerhalb einer bestimmten Zeitperiode (Periodenprävalenz).

Relatives Risiko

(RR) ist ein Quotient zur Risikoeinschätzung für eine Kohortenstudie. Er sagt aus, ob ein das Risiko erhöhender Effekt einer bestimmten Variablen/Einflussgröße gegeben ist ($RR > 1$), erniedrigt ($RR < 1$) od. ob diese Variable ohne Einflussnahme bleibt (sich neutral verhält) ($RR = 0$).

Odds Ratio

(= OR, Odds = Anzahl positiver Fälle dividiert durch Anzahl negativer Fälle, Ratio = Quotient) ist ein Quotient zur Risikoeinschätzung für eine Fallkontrollstudie. Die Odds Ratio berechnet den Quotienten aus Relativem Risiko „Disponierter“ zu Relativem Risiko „Nicht-Disponierter“. Die OR sagt aus, ob eine bestimmte Variable/Einflussgröße einen „Richtungs“-Effekt auf das klinische Erscheinungsbild hat ($OR > 1$), oder auch nicht ($OR = 1$), bzw gar einen gegensinnigen Effekt hat ($OR < 1$).

Konfidenzintervall

ist ein statistischer Vertrauensbereich, der die Unsicherheit einer Schätzung berücksichtigt. Ein 95%-Konfidenzintervall gibt den Bereich an, indem mit 95%iger Wahrscheinlichkeit das wahre Ergebnis liegt. Dieses Intervall wird mit Zunahme des Stichprobenumfangs immer kleiner.

Chi-Quadrat-Tests (nach Pearson und nach Fisher)

Der Chi-Quadrat-Test verwendet geordnete oder nicht geordnete numerische kategoriale Variablen (nominales oder ordinales Niveau der Meßwerte), ist ein nichtparametrischer Test und vergleicht beobachtete mit erwarteten Häufigkeiten.

Nichtparametrische Tests erfordern keine Annahmen über die Form der zugrunde liegenden Verteilung. Die Daten werden als zufällige Stichprobe betrachtet. Die

erwartete Häufigkeit in jeder Kategorie muss mindestens 1 betragen. Bei höchstens 20% der Kategorien (Felder) darf die erwartete Häufigkeit unter 5 liegen. Ist dies der Fall, kann alternativ der exakte Test nach Fisher verwendet werden.

Mann-Whitney-U-Test bzw. Wilcoxon-W-Test

Mit Hilfe dieses Tests kann geprüft werden, ob zwei unabhängige Stichproben (Gruppen) aus derselben Grundgesamtheit stammen. Der Mann-Whitney-U-Test ist der am häufigsten verwendete Test bei zwei unabhängigen Stichproben. Er ist äquivalent zum Wilcoxon-Rangsummentest und dem Kruskal-Wallis-Test für zwei Gruppen. Mit dem Mann-Whitney-U-Test wird überprüft, ob zwei geprüfte Grundgesamtheiten die gleiche Lage besitzen. Die Beobachtungen aus beiden Gruppen werden kombiniert und in eine gemeinsame Reihenfolge gebracht, wobei - im Falle von Rangbindungen der durchschnittliche Rang vergeben wird. Es wird berechnet, wie oft ein Wert aus Gruppe 1 einem Wert aus Gruppe 2 und wie oft ein Wert aus Gruppe 2 einem Wert aus Gruppe 1 vorangeht.

Abbildung 5: Schema zur Auswahl von Tests

		stetige Zielgröße		nominale oder diskrete Zielgröße
		parametrische Tests	nicht-parametrische Tests	nicht-parametrische Tests
1-Stichproben-Tests		1-Stichproben-t-Test	Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test Vorzeichen-Test	Chi-Quadrat-Test (bei dichotomer Zielgröße: Binomial-Test)
2-Stichproben-Tests	unverbunden	t-Test für unverbundene Stichproben	Mann-Whitney-U-Test (synonym Wilcoxon-Rangsummen-Test)	Chi-Quadrat-Test
	verbunden	t-Test für verbundene Stichproben	Wilcoxon Vorzeichen-Rang-Test und Vorzeichen-Test	McNemar-Test (nur für dichotome Zielgröße)
Mehr-Stichproben-Tests	unverbunden	Varianzanalyse (F-Test)	Kruskal-Wallis-Test	Chi-Quadrat-Test
	verbunden	Varianzanalyse (F-Test)	Friedman-Test	

Signifikanz

Signifikante Testergebnisse ($p < 0,05$) wurden genau hinterfragt und nur dann gedanklich weiterverfolgt, wenn eine plausible Erklärung hierfür gegeben war. Dies galt auch für die Ergebnisse, bei denen keine Signifikanz zu erwarten gewesen war und sich im Test auch so bestätigte.

2. Beobachtungsparameter

2.1 Allgemeine Beobachtungen

Thrombembolisches Ereignis (1 = ja, 2 = nein)

Venöses System betreffende Ereignisse (1=ja, 2=nein)

- Lungenembolie (1=ja, 2=nein)
- Thrombose der Vena cava (1=ja, 2=nein)
- Becken-/Oberschenkelthrombosen (1=ja, 2=nein)
- Unterschenkelthrombose (1=ja, 2=nein)
- Andere venöse Ereignisse/Organvenenthrombosen (1=ja, 2=nein)

Arteriell System betreffende Ereignisse (1=ja, 2=nein)

- Myokardinfarkt (1=ja, 2=nein)
- Apoplex, TIA, PRIND (1=ja, 2=nein)
- andere arterielle Ereignisse (1=ja, 2=nein)

2.2 Vaskuläre Risikofaktoren

- Alter (stetig, dichotom: I= 12-44, II: 45-81)
- Geschlecht (1=weiblich, 2=männlich)
- Body-Mass-Index (stetig, dichotom: Adipositas: >25 bzw. >30)
- Nikotinabusus (1=Abusus oder Exabusus, 2=Nichtraucher)
- Hypertonus (1=ja, 2=nein)
- Hyperurikämie (1=ja, 2=nein)
- Hyperlipoproteinämie (1=ja, 2=nein)

2.3 Expositionelle bzw. dispositionelle Risikofaktoren

- postoperative Thrombosen (1=ja, 2=nein)
- posttraumatische Thrombosen (1=ja, 2=nein)
- Infekt assoziierte Thrombosen (1=ja, 2=nein)
- Immobilisationsthrombosen (1=ja, 2=nein)

- Schwangerschaftsthrombosen (1=ja, 2=nein)
- Varikosis (1=ja, 2=nein)
- Kontrazeptiva/ Östrogene (1=ja, 2=nein)
- Neoplasien (1=ja, 2=nein)
- Thromboembolische Ereignisse in der Familie (1=ja, 2=nein)

2.4 Bestimmung der Antiphospholipid-Antikörper

Material

Zum Nachweis der Phospholipid-Antikörper wurde das Testkitt COLIZA[®] Anti-Cardiolipin der Firma Chromogenix benutzt, das bei 4°C gelagert wird, ein enzymimmunologischer Test (ELISA) ist und zur Bestimmung von IgG und IgM Anti-Cardiolipin-Antikörper in menschlichem Serum oder Plasma dient.

Testprinzip

Verdünnte Serumproben, Kalibratoren und Kontrollen werden in Cardiolipin beschichteten Mikrowells inkubiert, wobei die in den Seren vorhandenen aCL-Antikörper mit dem Cardiolipin als Antigen einen Komplex bilden. Nach dem Auswaschen von ungebundenen Serumproteinen werden mit Meerrettichperoxidase („*Horseradish peroxidase*“ (HRP)) markierte, für menschliches IgG oder IgM spezifische Antikörper zugefügt, die sodann einen Komplex mit den Cardiolipin-gebundenen Antikörpern eingehen. Der Test für IgG aCL, bzw. IgM aCL- Antikörper muss separat durchgeführt werden. Nach einem weiteren Waschschrift wird das gebundene Enzym-Antikörper-Konjugat durch Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB) und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) angefärbt. Diese Farbentwicklung ist proportional zur aCL- Antikörperkonzentration des Serums.

Normwerte

IgG: pathologisch >20 [GPL]

IgM: pathologisch >10 [MPL]

2.5 Gliederung und Normwerte weiterer Parameter

Globaltests der plasmatischen Gerinnung

- Thromboplastinzeit (TPZ) bzw. Quick: pathologisch <70 [%]
- Hepatoquick: pathologisch <70 [%]
- aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT): normal 25 - 40 [Sekunden]
- Thrombinzeit (TZ): normal 14 - 21 [Sekunden]
- Fibrinogen n. Clauss: normal 150 - 450 [mg/dl]

Primäre Hämostaseparameter

- Thrombozytenzahl: normal 150 - 350 [Tsd*10³/µl]
- Mean Platelet Volume: normal 8 – 13 µm³ [ff]
- Spontanaggregation der Plättchen: 1 = fehlende, 2 = gering gesteigerte, 3 = deutlich gesteigerte, 4 = normale Spontanaggregation
- Plättchenadhäsion T nach Hellem Adhäsion T: pathologisch >38 [%]
- Erhöhte vWF-Konzentration: pathologisch >123 [%]
- Erhöhtes Homocystein: pathologisch >15 [µmol/l]

Adhäsionsproteine

- Fibronectin: pathologisch <15 [mg%]
- Thrombomodulin: pathologisch <28 [ng/ml]

Thrombophile Risikoindikatoren der plasmatischen Gerinnung

- Fibrinogen-Konzentration: pathologisch Frauen: >262; Männer: >252 [mg/dl]
- Antithrombin-III-Aktivität: pathologisch <70 [%]
- Antithrombin-III-Konzentration: pathologisch Frauen: <19,8; Männer: <23 [mg/dl]
- Protein-C-Aktivität: pathologisch <70 [%]
- Protein-C-Konzentration: pathologisch Frauen: <81; Männer: <80 [%]
- Protein-C-Resistenz, B/A-Ratio: pathologisch Frauen: >2; Männer: >2,1
- Protein-C-Resistenz, NR: pathologisch: Frauen >1,1; Männer: >1,2
- Pro C global Ratio: pathologisch Frauen: <2,4; Männer: <2,2
- Pro C global NR pathologisch Frauen: <0,9; Männer: <0,8

- Protein-S-Gesamtkonzentration: pathologisch Frauen: <98; Männer: <101,5 [%]
- Phospholipid-Antikörper IgG: pathologisch <20 [GPL]
- Phospholipid-Antikörper IgM: pathologisch <10 [MPL]
- Lupus-Antikoagulanzen: pathologisch >1
- Heparin-Co-Faktor-II-Aktivität: pathologisch Frauen: < 65; Männer: < 55
- Erhöhtes Lipoprotein (a): pathologisch >300 [ng/ml]

Thrombophile Risikoindikatoren des Fibrinolyse-Systems

- Plasminogen-Konzentration: pathologisch Frauen: <8,5; Männer: <9,8 [mg%]
- Plasminogen-Aktivität: pathologisch Frauen: <78; Männer: <75 [%]
- alpha2-Antiplasmin Aktivität: pathologisch Frauen: >109; Männer >100 [%]
- PAP (Plasminogen alpha2 Antiplasmin Peptid): pathologisch bis Februar 1997: <250; ab März 1997: <650 [ng/ml]

Genetische Risikofaktoren

- Prothrombinmutation: 1 = heterozygot, 2 = homozygot, 3 = normal
- Faktor V Mutation (Typ Leiden): 1 = heterozygot, 2 = homozygot, 3 = normal

Rheologie

- Erythrozytenaggregationsindex: pathologisch >20
- Plasmapviskosität: pathologisch >1,3 [mPas]
- Hämatokrit: normal Frauen: 36 - 46; Männer: 43 - 49 [%]
- Erythrozytenzahl: normal Frauen: 4,2 - 5,4; Männer: 4,6 - 6,2 [Mio./ μ l]

Thrombingerationsmarker

- D-Dimere ELISA: pathologisch >25 [ng/ml]
- TAT-Konzentration: pathologisch >3,5 [μ g/l]

Infekt assoziierte Marker

- Leukozytenzahl: normal 4 - 10 [$\cdot 10^3/\mu$ l]
- BSG: 1h-Wert: normal Frauen 6-11, Männer 3-8
- Neutrophile: normal 50-70 [%]

IV. Ergebnisse

1. Allgemeine Beobachtungen

1.1 Hypothese H01

Erhöhte Phospholipid-Antikörper lassen sich bei verschiedenen thromboembolischen Gefäßkomplikationen unabhängig vom betroffenen Gefäßsystem (venös/arteriell) und unabhängig von der jeweiligen Lokalisation des Ereignisses gegenüber Gesunden gleichermaßen nachweisen.

1.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H01

Tabelle H01	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Pathologisch			N _{XY}	Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test			
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	
Thromboembolisches Ereignis (venös/arteriell)	559	143	27	746	118	25	1,7	4,3	0,02	0,03	0,08	0,06
Venöses Ereignis	458	127	22	645	102	20	1,8	4,2	0,01	0,03	0,04	0,08
Lungenembolie	155	70	10	342	45	8	2,6	5,0	0,00	0,00	0,00	0,43
Vena Cava	3	25	3	190	0	1	∅	46	1,00*	0,04*	0,50	0,12
Becken/Oberschenkel	100	40	5	287	15	3	∅	∅	0,70	0,34*	0,16	0,00
Unterschenkel	184	59	8	371	34	6	∅	∅	0,17	0,17*	0,37	0,01
Sonstige venöse Ereignisse	156	68	10	343	43	8	2,4	5	0,00	0,04*	0,00	0,25
Arteriell Ereignis	139	45	9	326	20	7	1,0	4,9	0,70	0,04*	0,88	0,42
Myokardinfarkt	12	27	3	199	2	1	∅	∅	0,66*	0,17*	0,32	0,02
TIA, PRIND, Apoplex	89	36	7	276	11	5	∅	5,5	0,81	0,03*	0,72	0,07
Sonstige arterielle Ereignisse	46	33	33	3	8	1	∅	∅	0,48	0,48*	0,60	0,38

1.3 Zusammenfassung der Hypothese H01

Bei thromboembolischen Ereignissen im sind erhöhte Phospholipid-Antikörper vermehrt nachweisbar.

Im Vergleich „venös/arteriell“ lassen sich in besonderem Maße im venösen Gefäßsystem erhöhte Phospholipid-Antikörper nachweisen. Dabei sind erhöhte Phospholipid-Antikörper bei der Lungenembolie prädominant nachweisbar.

Im arteriellen Gefäßsystem lassen sich erhöhte Phospholipid-Antikörper im Quervergleich mit Gesunden zahlenmäßig nicht häufiger nachweisen.

2. Vaskuläre Risikofaktoren

2.1 Hypothese H02

Das Vorhandensein vaskulärer Risikofaktoren ist nicht signifikant mit dem Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper assoziiert.

2.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H02

Tabelle H02	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _G	N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
Alter (G.1: 12-44)	428	143	27	746	81	19	∅	∅	0,84	0,16	0,28	0,27
Geschlecht (Frauen)	441	143	27	746	80	19	∅	∅	0,39	0,22	0,42	0,00
BMI (>30)	135	143	27	746	31	5	∅	∅	0,21	1,00*	0,08	0,27
Nikotinabusus	253	143	27	746	54	14	∅	2,1	0,28	0,04	0,25	0,23
Hypertonus	192	143	27	746	36	3	∅	∅	0,86	0,07	0,71	0,11
Hyperurikämie	44	143	27	746	14	2	2,0	∅	0,02	0,67*	0,57	0,86
Hyperlipidämie/ Hypercholesterinämie	31	143	27	746	31	3	∅	∅	0,08	0,60*	0,36	0,07

2.3 Zusammenfassung der Hypothese H02:

Alter und Geschlecht werden zwar mit einer Phospholipid-Antikörper-Titer-Erhöpfung in Verbindung gebracht bzw. diskutiert, sind aber nicht signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper-Titer korreliert. Auch die anderen, konventionellen vaskulären Risikofaktoren sind nicht signifikant häufiger bei einem Personenkreis mit erhöhten Phospholipid-Antikörper-Titer vorhanden.

3. Expositionelle bzw. dispositionelle Risikofaktoren

3.1 Hypothese H03:

Expositionelle bzw. dispositionelle thrombophile Risikofaktoren zeigen keine signifikante Häufung bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper.

3.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H03:

Tabelle H03	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch				N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}	N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
postoperative Thrombose	103	143	27	746	19	2	∅	∅	0,84	0,56*	0,36	0,98
posttraumatische/ Infektimmobilisation- thrombose	33	143	27	746	9	3	∅	∅	0,22	0,11*	0,00	0,10
Immobilisations- thrombose	69	143	27	746	16	2	∅	∅	0,37	1,00*	0,82	0,18
Schwangerschafts thrombose	39	143	27	746	9	5	∅	4,5	0,52	0,01*	0,42	0,92
Varikosis	174	143	27	746	35	3	∅	∅	0,71	0,12	0,82	0,63
Kontrazeptiva/ Östrogene	161	143	27	746	34	6	∅	∅	0,47	0,93	0,76	0,00
Neoplasien	23	143	27	746	2	0	∅	∅	0,28*	1,00*	0,46	0,77
Thrombose in Familienanamnese	397	143	27	746	76	9	∅	∅	0,98	0,03	0,37	0,09

3.3 Zusammenfassung der Hypothese H03:

Eine signifikante Koexistenz dispositioneller, bzw. expositioneller thrombophiler Risikoindikatoren mit erhöhten Phospholipid-Antikörper besteht nicht.

4. Globaltest der plasmatischen Gerinnung

4.1 Hypothese H04:

Abnorme Ergebnisse in den Globaltesten der plasmatischen Gerinnung sind nicht signifikant häufiger bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper feststellbar.

4.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H04:

Tabelle H04	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _{XY}	Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test			
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	
erniedrigte TPZ / Quick	44	143	27	743	15	3	2,3	∅	0,01	0,21*	0,00	0,68
erniedrigter Hepatoquick	84	65	16	332	26	7	2,4	∅	0,00	0,13*	0,00	0,00
erhöhte partielle Thromboplastinzeit	62	140	27	727	18	4	1,8	∅	0,04	0,27*	0,01	0,00
erniedrigte partielle Thromboplastinzeit	17	125	23	682	3	0	∅	∅	1,00*	1,00*	0,29	0,16
erhöhte Thrombinzeit	68	130	26	700	11	3	∅	∅	0,59	0,73*	0,93	0,02
erniedrigte Thrombinzeit	40	131	24	672	12	1	∅	∅	0,08	1,00*	0,19	0,88
erhöhtes Fibrinogen n. Clauss	9	138	24	707	2	0	∅	∅	0,69*	1,00*	0,60	0,64
erniedrigtes Fibrinogen n. Clauss	33	140	27	731	4	3	∅	∅	0,29	0,11*	0,66	0,48

4.3 Zusammenfassung der Hypothese H04:

Sowohl Parameter des intrinsischen (PTT) als auch extrinsischen Systems (TPZ/Quick, Hepatoquick) sind signifikant häufiger pathologisch im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörper-Titer.

5. Primäre Hämostaseparameter

5.1 Hypothese H05:

Primäre Hämostaseparameter sind nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern im Blut assoziierbar

5.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H05:

Tabelle H05	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _G	N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erniedrigte Thrombozytenzahl	40	134	24	701	7	2	∅	∅	0,78	0,64*	0,99	0,38
erhöhte Thrombozytenzahl	34	134	24	695	7	2	∅	∅	0,84	0,33*	0,61	0,64
erniedrigtes Mean Platelet Volume	5	132	26	700	1	2	∅	18,6	1,00*	0,01*	0,99	0,00
erhöhtes Mean Platelet Volume	35	138	25	730	7	1	∅	∅	0,86	1,00*	0,93	0,93
fehlende Spontanaggregation der Plättchen	324	113	22	575	77	17	1,8	∅	0,00	0,04	0,00	0,00
gering gesteigerte Spontanaggregation der Plättchen	51	43	9	302	7	4	∅	4,1	0,90	0,04*	0,89	0,02
deutlich gesteigerte Spontanaggregation der Plättchen	120	59	6	371	23	1	∅	∅	0,23	0,66*	0,23	0,53
erhöhte Plättchenadhäsion T nach Hellem	60	130	22	618	19	3	1,8	∅	0,03	0,46*	0,06	0,27
Erhöhte vWF-Konzentration	273	94	20	440	60	12	∅	∅	0,68	0,84	0,50	0,23
erhöhtes Homocystein	50	16	2	145	3	0	∅	∅	0,16	0,54*	0,09	0,48

5.3 Zusammenfassung der Hypothese H05:

Weder der Nachweis einer erhöhten, noch erniedrigten Thrombozytenzahl waren signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper verbunden. Sowohl eine fehlende Spontanaggregation, (= Normalbefund) wie auch eine gesteigerte Adhäsion der Thrombozyten waren signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper korreliert. Ein Bezug erhöhter Phospholipid-Antikörper zu einer nachweislich gesteigerten Spontan-Aggregation der Thrombozyten konnte nicht hergestellt werden. Auch erhöhte Homocysteinserumwerte, wie auch die v.Willebrand spezifischen Faktoren waren im Sinne der Arbeitshypothese bedeutungslos.

6. Adhäsionsproteine

6.1 Hypothese H06:

Eine Reduktion von Adhäsionsproteinen geht nicht signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper einher.

6.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H06:

Tabelle H06	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
Variable X:	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _G	N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erniedrigtes Fibronectin	7	112	20	495	1	0	∅	∅	1,00*	1,00*	0,20	0,66
erniedrigtes Thrombomodulin	19	14	3	91	4	2	∅	∅	0,48*	0,10*	0,35	0,19

6.3 Zusammenfassung der Hypothese H06:

Eine Reduktion oben genannten Adhäsionsproteine ist nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörper korrelierbar.

7. Thrombophile Risikoindikatoren der plasmatischen Gerinnung

7.1 Hypothese H07:

Thrombophile Risikoindikatoren der plasmatischen Gerinnung zeigen keinerlei Prävalenz bzw. Signifikanz beim Nachweis von Phospholipid-Antikörper im Blut.

7.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H07:

Tabelle H07 Variable X:	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test		
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}	N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erhöhte Fibrinogen-Konzentration	302	116	21	514	73	9	∅	∅	0,29	0,13	0,47	0,00
erniedrigte Antithrombin-III-Aktivität	28	136	27	725	7	3	∅	∅	0,38	0,08*	0,04	0,60
erniedr. Antithrombin-III-Konzentration	100	135	25	703	26	4	∅	∅	0,06	0,77*	0,11	0,93
erniedrigte Protein-C-Aktivität [%]	40	139	26	729	16	3	3,0	∅	0,00	0,16*	0,00	0,13
erniedrigte Protein-C-Konzentration	50	135	27	705	16	4	2,1	∅	0,01	0,11*	0,00	0,59
erhöhte Protein-C-Resistenz, B/A-Ratio	409	110	21	646	75	13	∅	∅	0,95	0,89	0,65	0,66
erhöhte Protein-C-Resistenz, NR	60	39	5	380	8	0	∅	∅	0,39	1,00*	0,83	0,90
erniedrigte Pro C global Ratio	124	33	3	296	16	2	∅	∅	0,41	0,57*	0,27	0,41
erniedrigtes Pro C global NR	118	33	3	294	12	2	∅	∅	0,63	0,56*	0,54	0,54
erniedrigte Protein-S-Gesamtkonzentration	234	139	27	728	59	15	1,7	2,7	0,00	0,00	0,00	0,00
erhöhte Phospholipid-Antikörper IgG	143	X	27	X	X	14	X	4,9	X	0,00	X	0,00
erhöhte Phospholipid-Antikörper IgM	27	143	X	746	14	X	4,9	X	0,00	X	0,00	X
erhöhtes Lupus-Antikoagulanz	15	24	4	243	3	2	∅	17,3	0,17*	0,02*	0,30	0,20
erniedrigte Heparin-Co-Faktor-II-Aktivität	3	119	21	574	1	0	∅	∅	0,50*	1,00*	0,87	0,53
Erhöhtes Lipoprotein (a)	68	79	14	336	13	2	∅	∅	0,33	0,74*	0,38	0,74

7.3 Zusammenfassung der Hypothese H07:

Sowohl eine erniedrigte Protein C Aktivität/Konzentration, wie auch eine reduzierte Protein S-Konzentration sind signifikant mit dem Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper (insbesondere – IgG) verbunden. Der Nachweis erhöhter Phospholipid-

Antikörper Typ IgG ist signifikant mit dem Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper Typ IgM verknüpft. Die Koinzidenz erhöhter Phospholipid-Antikörper mit einem Lupus Antikoagulanzen ist hingegen (aufgrund geringer Fallzahlen) nicht beurteilbar.

8. Thrombophile Risikoindikatoren des Fibrinolyse-Systems

8.1 Hypothese H08:

Thrombophile Risikoindikatoren des Fibrinolyse-Systems zeigen keinerlei Bezug zum Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper im Blut.

8.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H08:

Tabelle H08	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _G	N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erniedrigte Plasminogenkonzentration	37	131	24	654	7	1	∅	∅	0,86	1,00*	0,59	0,15
erniedrigte Plasminogen-Aktivität	45	132	24	672	7	3	∅	∅	0,47	0,21*	0,85	0,03
erhöhte Alpha2-Antiplasmin Aktivität	302	130	24	652	51	8	∅	∅	0,07	0,19	0,30	0,38
erniedrigtes PAP (Plasminogen Alpha-2 Antiplasmin Peptid)	483	143	27	744	69	12	0,4	0,4	0,00	0,02	0,00	0,00

8.3 Zusammenfassung der Hypothese H08:

Bei Personen mit einer erniedrigten Fibrinolyseaktivität waren erhöhte Phospholipid-Antikörper signifikant seltener nachweisbar.

9. Genetische Gefäßrisikofaktoren

9.1 Hypothese H09:

Genomisch analysierbare Indikatoren der Thrombophilie sind signifikant häufiger mit dem Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper assoziiert.

9.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H09:

Tabelle H09	Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch				N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}	N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
heterozygote Prothrombinmutation	29	49	9	429	1	0	0,2	∅	0,23*	1,00*	0,75	0,98
homozygote Prothrombinmutation	1	48	9	400	0	0	∅	∅	1,00*	1,00*	0,73	0,11
heterozygote Faktor V Mutation Typ Leiden	136	62	13	492	15	2	∅	∅	0,51	0,53*	0,39	0,38
homozygote Faktor V Mutation Typ Leiden	16	49	11	372	2	0	∅	∅	1,00*	1,00*	0,76	0,52

9.3 Zusammenfassung der Hypothese H09:

Unabhängigkeit von der Ausprägung des genetischen Defektes ist die Prävalenz der Faktor V Mutation Typ Leiden, wie auch die einer Prothrombin-Genvariante (G20210A) bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper nicht signifikant höher.

10. Rheologie

10.1 Hypothese H10:

Rheologische Messgrößen zeigen keine erhöhte Prävalenz bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper.

10.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H10:

Tabelle H10		Variable Y: Phospholipid-Antikörper										
Variable X:	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch			N _G	N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _x	N _{IgG}	N _{IgM}		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erhöhter Erythrozyten-Aggregationsindex	45	118	24	598	10	1	∅	∅	0,66	1,00*	0,36	0,54
erhöhte Plasmaviskosität	116	118	24	606	26	6	∅	∅	0,37	0,43*	0,00	0,20
erniedrigter Hämatokrit	176	140	27	719	30	7	∅	∅	0,35	0,85	0,18	0,24
erhöhter Hämatokrit	20	111	20	563	1	0	∅	∅	1,00*	1,00*	0,55	0,28
erniedrigte Erythrozytenzahl	213	141	27	735	34	8	∅	∅	0,15	0,94	0,27	0,84
erhöhte Erythrozytenzahl	4	107	19	526	0	0	∅	∅	0,58*	1,00*	0,61	0,27

10.3 Zusammenfassung der Hypothese H10:

Rheologische Messparameter stehen in keinem Zusammenhang mit erhöhten Phospholipid-Antikörper.

11. Thrombingenerationsmarker

11.1 Hypothese H11:

Thrombingenerationsmarker zeigen keinerlei Prävalenz bzw. Signifikanz beim Nachweis von Phospholipid-Antikörper im Blut.

11.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H11:

Tabelle H11		Variable Y: Phospholipid-Antikörper											
Variable X:		Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch				N_{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
		N_x	N_{IgG}	N_{IgM}	N_G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erhöhte D-Dimere (ELISA)		202	138	25	693	37	7	∅	∅	0,50	0,89	0,44	0,26
erhöhte TAT-Konzentration		176	137	25	687	38	9	∅	∅	0,52	0,22	0,32	0,89

11.3 Zusammenfassung der Hypothese H11:

Erhöhte Thrombingenerationsmarker waren nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörper assoziierbar.

12. Infekt assoziierte Marker

12.1 Hypothese H12:

Bei der Untersuchung infekt assoziierter Marker zeigt sich keine erhöhte Prävalenz im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörper.

12.2 Analysen und Bewertung der Hypothese H12:

Tabelle H12		Variable Y: Phospholipid-Antikörper										
Variable X:	Anzahl Fälle für Ereignis /pathologisch				N _{XY}		Odds Ratio		Chi-Quadrat/ * Fischer		Mann-Whitney-U-Test	
	N _X	N _{IgG}	N _{IgM}	N _G	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
erniedrigte Leukozytenzahl	68	138	25	706	10	3	∅	∅	0,29	0,72*	0,35	0,43
erhöhte Leukozytenzahl	33	131	24	671	3	2	∅	∅	0,12	0,33*	0,04	0,20
erniedrigte BSG	56	19	6	87	12	5	∅	∅	0,90	0,41*	0,72	0,24
erhöhte BSG	55	16	3	86	9	2	∅	∅	0,47	1,00*	0,83	0,04
erniedrigte Neutrophilenzahl	126	123	21	628	32	4	∅	∅	0,06	1,00*	0,30	0,19
erhöhte Neutrophilenzahl	80	102	21	582	11	4	∅	∅	0,33	0,51*	0,01	0,15

12.3 Zusammenfassung der Hypothese H12:

Bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper waren die Thrombingenerationsmarker nicht signifikant erhöht.

13. Zusammenfassung der Ergebnisse

Jeder einzelne Parameter wurde differenziert auf mögliche Interaktionen mit erhöht nachweisbaren Phospholipid-Antikörper und auf Signifikanz, oder auch Nicht-Signifikanz hinterfragt. Zudem wurde eine Prüfung auf Übereinstimmung innerhalb der einzelnen Abhängigkeiten für Parameter des endogenen, und exogenen Gerinnungssystems/Fibrinolyse systems unter Einbeziehung genomisch analysierbarer „Marker“ der Thrombophilie sowie der zellulären Blutgerinnung und Rheologie herangezogen.

Die aus unseren Ergebnissen zu ziehenden Erkenntnisse führten zu folgenden Schlussfolgerungen:

1. Bei thromboembolischen Ereignissen sind erhöhte Phospholipid-Antikörper vermehrt nachweisbar.
2. Erhöhte Phospholipid-Antikörper spielen im venösen Gefäßsystem eine größere Rolle als im arteriellen Gefäßsystem. Insbesondere bei Patienten mit einer Lungenembolie ist der Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper eine häufig vorkommende thrombophile Risikovariante. Auffällig bleibt sogar, dass die Prävalenz erhöhter Phospholipid-Antikörper bei Personen mit arteriellen thromboembolischen Komplikationen nicht höher war, als bei einer gesunden Vergleichsgruppe.
3. Zunehmendes Alter und das weibliche Geschlecht werden zwar als häufig mit einer Phospholipid-Antikörper-Erhöhung assoziiert diskutiert, sind aber nicht signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper korrelierbar. Auch weisen die Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper nicht signifikant häufiger vaskuläre Risikofaktoren auf.
4. Der Nachweis dispositioneller und expositioneller Risikofaktoren ist nicht signifikant häufiger bei einem Personenkreis mit erhöhten Phospholipid-Antikörper führbar.
5. Der Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper ist – erwartungsgemäß – signifikant häufiger mit einer Einflussnahme auf das exogene und endogene Gerinnungssystem verbunden.
6. Bei Personenkreisen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper finden sich weder gehäuft niedrige, noch erhöhte Thrombozytenzahlen.
7. Auch war der Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper nicht mit einer gesteigerten Thrombozytenaggregation assoziiert, wohingegen gehäuft eine erhöhte Plättchenadhäsion im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörper

nachweisbar war. Dieser Effekt war jedoch nicht rückführbar auf eine Erhöhung der Adhäsionsproteine.

8. Eine Reduktion oben genannter Adhäsionsproteine ist nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörper korrelierbar
9. Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper (insbesondere IgG) weisen signifikant häufiger eine erniedrigte Protein C Aktivität/Konzentration auf, als Gesunde. Dies gilt auch für reduzierte Protein S-Konzentrationen.
10. Die Koinzidenz erhöhter Phospholipid-Antikörper mit einem Lupus Antikoagulant ist aufgrund geringer Fallzahlen nicht beurteilbar.
11. Abnorme Fibrinolyseparameter sind nicht häufiger bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper nachweisbar.
12. Molekulargenetisch bestimmbare thrombophile Marker (Faktor V Mutation Typ Leiden; Prothrombin G 20210A Mutation) finden sich nicht häufiger bei Personenkreisen, bei denen Phospholipidantikörper erhöht messbar sind.
13. Veränderungen der „Blut-Rheologie“ finden sich nicht häufiger im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörper.
14. Auch erhöhte Thrombingenerationsmarker sind nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörper assoziierbar.

V. Diskussion

1. Allgemein

Phospholipid-Antikörper stellen eine heterogene Gruppe von Autoantikörpern gegen Phospholipid-Protein-Komplexe dar, wobei als Lupus Antikoagulanzen eine Untergruppe von Phospholipid-Antikörpern bezeichnet wird (²⁵Feinstein & Rapaport 1972). Obwohl Phospholipid-Antikörper erstmals vor mehr als vier Jahrzehnten beschrieben wurden, ist der ihnen zugrunde liegende oftmals auch zu Thrombosen, Spontanaborten und Thrombozytopenien disponierende Mechanismus bis heute ungeklärt (²⁶Bowie 1963, ²³Harris 1983, ⁵³Laurell 1957).

Sie sind häufig erstes Zeichen einer bis dahin unbekannteren Autoimmunerkrankung. Im Verlauf schwanken die Antikörperspiegel und sind auch nicht vorhersagbar. So sind über Jahrzehnte unveränderte Titer genauso möglich wie drastische Anstiege innerhalb kurzer Zeiträume. Da Phospholipide wie Cardiolipin, Phosphatidylserin, Phosphatidylethanoamin, Beta-2 Glycoprotein I über gemeinsame, oder sehr ähnliche Antigenstrukturen verfügen, besteht eine hohe Kreuzreaktivität (⁵⁴Galli 1996, ⁵⁵Triplett 1998). Zum sicheren Nachweis von Phospholipid-Antikörpern sollten zwei ELISA-Verfahren mit unterschiedlichen Antigenstrukturen kombiniert werden. Literaturangaben zufolge sind auch Grenzwertbefunde therapierelevant, da die Höhe der Antikörper-Titer nicht mit dem Thromboserisiko korreliert werden kann. Dies gilt jedoch nicht für grenzwertig erhöhte IgM-Werte, von denen bekannt ist, dass deren Testsysteme in diesem Messbereich nicht valide sind. Bei Thrombophilie-Patienten finden sich Phospholipid-Antikörper in ca. 30% der Fälle. Davon haben in 50% bis zu 75% der Fälle auch eine Lupus Antikoagulanzen nachweisbar. Andererseits ist der Nachweis von Lupus Antikoagulanzen in der Normalbevölkerung beim Nachweis von Phospholipid-Antikörpern (ca. 5-15% d. Fälle) sehr gering und variiert deutlich in der Literatur (⁵⁶Shapiro 1996, ⁵⁷McNeil 1991, ¹⁵Vila 1994). Auch eine Altersabhängigkeit wird kontrovers beschrieben, wobei die Inzidenz von Phospholipid-Antikörpern bei schwangeren Frauen sich nicht von Nicht-Schwangeren unterscheidet (⁵⁸Manoussakis 1987, ⁵⁰Barbui 1997, ⁵⁹Parke 1991).

Phospholipidabhängige Reaktionen im Hämostasesystem werden hierdurch gestört. Vorzugsweise handelt es sich um Antikörper der Klasse IgG und IgM. Sie bedingen

jedoch nicht grundsätzlich das Vorliegen einer thrombophilen Diathese. So ist auch das passagere Auftreten von z.B. Lupusinhibitoren bei Kindern oder infektassoziiert in der Regel nicht mit thromboembolischen Komplikationen begleitet (⁵⁷McNeil 1991, ¹⁵Vila 1994). Aufgrund einer relativ unbegrenzten Menge an Phospholipiden in vivo spielt der Effekt durch gebundene Antikörper in vivo keine Rolle. Hier überwiegt die Aktivierung der plasmatischen Gerinnung. Normalerweise gehen verlängerte PTT Zeiten mit einer erhöhten Blutungsneigung einher, z.B. bei Patienten mit Hämophilie, oder einem V. Willebrand Syndrom.

Die pathogenetischen Mechanismen, die zur Bildung von Phospholipidantikörpern führen, sind bisher nicht geklärt. Auch konnte bislang die Frage nicht geklärt werden, warum Phospholipidantikörpern einen thrombophilen Risikofaktor darstellen. Als eine mögliche Erklärung wird derzeit eine erworbene APC-Resistenz, oder eine Beeinflussung antikoagulatorischer Funktionen angesehen (⁶⁰Smirnov 1995). Eine Korrelation zwischen dem Antikörper-Titer und der klinischen Symptomatik wurde bislang nicht beschrieben.

Pathophysiologisch werden auch Störungen der Thrombozyten-Endothel-Interaktion und des Protein C-/S-Systems diskutiert. So lassen sich in Seren von Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper auch Antikörper gegen Protein C/S, oder Thrombomodulin nachweisen (⁶¹Ruiz-Arguelles 1989).

Auch führen Antikörper zu einer Blockade von Antithrombin, Expression von Tissue Factor aus Monozyten und Expression von endothelialen Adhäsionsmolekülen. Auch eine Thrombozytenaktivierung mit nachfolgender Aggregation und Thrombozytopenie wird beschrieben (⁶²Jy 2003, ⁶⁸Warkentin 2003).

Literaturangaben zufolge ist die Therapie mit Thrombozytenfunktionshemmern auch in Kombination mit Antikoagulanzen sekundär prophylaktisch wirksam, wohingegen eine immunsuppressive Therapie allgemein nicht empfohlen wird (³⁸Hach-Wunderle 2005).

Da das Auftreten von Phospholipid-Antikörper im Zusammenhang mit lymphatischen Systemerkrankungen, paraneoplastisch, parainfektios, aber auch ohne erkennbare Ursache auftritt sollten auch erworbene spez. Inhibitoren im endogenen und/oder exogenen Gerinnungssystem ausgeschlossen werden. Dies ist insbesondere auch insofern bedeutsam, als dass Thrombosen oftmals Erstmanifestationen von Tumoren sein können.

Therapeutisch erhalten Patienten mit Phospholipid-Antikörper Syndrom eine orale Antikoagulation mit Marcumar (INR-Zielwert: 2,0-3,0). Im Falle von Rezidiv-Thrombosen werden auch INR-Zielbereiche von 3,0 bis 4,5 empfohlen (³⁸Hach-Wunderle 2005). Im Falle arterieller Rezidivereignisse werden zusätzlich zu oralen Antikoagulantien Thrombozytenfunktionshemmer verabreicht. Die Fortführung einer oralen Antikoagulationstherapie sollte solange fortgesetzt werden, bis im Abstand von 3 Monaten keine Phospholipid-Antikörper mehr nachweisbar sind. Die Therapie-notwendigkeit symptomloser, persistierender Phospholipid-Antikörper wird kontrovers diskutiert und sollte im Einzelfall entschieden werden (³Khamashta 1995).

2. Ergebnisse

2.1 Schlußfolgerung 1 (Thrombophilie?)

Bei thromboembolischen Ereignissen waren erhöhte Phospholipid-Antikörper erwartungsgemäß vermehrt nachweisbar.

Mitte des letzten Jahrhunderts waren ohne klinische Hinweise für das Vorliegen einer Syphilis falsch positive serologische Tests erstmalig auffällig geworden (⁶³Moore 1955). Hierin mag man die Geburtsstunde der Phospholipid-Antikörper vermuten können. Zwischenzeitlich ist bekannt, dass der Nachweis von Phospholipid-Antikörper als einer der häufigsten thrombophilen Risikofaktoren gilt (⁶⁴Schulman 1998). Allerdings ist ihr Wert als Prädiktor für thrombotische Komplikationen als eher mäßiggradig einzustufen, was sich auch aus unseren Daten so ableiten läßt. Für thromboembolische Komplikationen fand sich eine odds ratio von 1,7.

2.2 Schlußfolgerung 2 (Lokalisation?)

Erhöhte Phospholipid-Antikörper spielen im venösen Gefäßsystem eine größere Rolle als im arteriellen Gefäßsystem. Insbesondere bei Patienten mit einer Lungenembolie finden sich gehäuft erhöhte Phospholipid-Antikörper. Auffällig bleibt, dass die Prävalenz erhöhter Phospholipid-Antikörper bei Personen mit arteriellen thromboembolischen Komplikationen nicht höher war, als bei einer gesunden Vergleichsgruppe. Zu ähnlichen Erkenntnissen kam auch Feinbloom in einer zusammenfassenden Beurteilung der Studienlage (⁶⁵Feinbloom 2005).

2.3 Schlußfolgerung 3 (Vaskuläre Risikofaktoren?)

Höheres Alter und eine Bevorzugung des weiblichen Geschlechts werden zwar als häufig mit einer Phospholipid-Antikörper-Erhöhung assoziiert diskutiert, sind aber entsprechend der uns vorliegenden Daten nicht signifikant mit erhöhten Phospholipid-Antikörper korrelierbar (⁵⁸Manoussakis 1987, ⁶⁶Finazzi 1996).

Auch besitzen Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper nicht signifikant häufiger vaskuläre (atherosklerotische) Risikofaktoren. So betrachtet wird auch hiermit die Hypothese (mit-) unterstützt, dass erhöhte Phospholipid-Antikörper im arteriellen Gefäßsystem eine weniger große Rolle zu spielen scheinen (⁶⁷Pasquier 2001).

2.4 Schlußfolgerung 4 (Triggermechanismen?)

Erhöhte Phospholipid-Antikörper treten nicht gehäuft auf im Zusammenhang mit dem Vorhandensein thrombophiler „Triggermechanismen“ (dispositionell/expositionell). Diese scheinen so betrachtet im Verbund das Risiko für thrombotische Komplikationen nicht zu potenzieren. Dies lässt sich nur bedingt mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen vereinen, in denen zum Teil ein Zusammenhang mit Immobilität, Tumorerkrankungen oder positiver Familienanamnese beschrieben wird (⁶⁷Pasquier 2001).

2.5 Schlußfolgerung 5 (Exogen/Endogen?)

In seltenen Fällen kann durch sekundäre Manifestationen der Grundkrankheit (z.B. Vorliegen eines Gerinnungsinhibitors, und/oder einer Immunthrombozytopenie) auch eine Blutungsdiathese begünstigt werden. Bei der Verlängerung der PTT- und PT-Werte spielt die Sensitivität der verwendeten Reagenzien eine entscheidende Rolle. Der Nachweis erhöhter Phospholipid-Antikörper ist – erwartungsgemäß – signifikant häufig mit einer Einflussnahme auf das exogene und endogene Gerinnungssystem verbunden. Auffällig war dass die Einflussnahme von Phospholipid-Antikörper auf das exogene Gerinnungssystem unwesentlich seltener gegeben war, als auf das endogene Gerinnungssystem. Dies ist insofern verwunderlich, als dass die PTT als phospholipidsensitivster Assay gilt.

2.6 Schlußfolgerung 6 und 7 (Thrombozyten?)

Bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper finden sich weder gehäuft niedrige, noch erhöhte Thrombozytenzahlen. Die Thrombozyten scheinen daher im Verbund mit Phospholipid-Antikörper keine vordergründig bedeutsame Rolle zu spielen. Das oftmals mit einer Thrombozytopenie einhergehende Phospholipid-Antikörper-Syndrom steht daher ursächlich eher nicht mit einer Aktivierung und Aggregatbildung im kausalen Zusammenhang. Dies wird auch durch die Tatsache (mit-) belegt, dass Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper keine gesteigerte Thrombozytenaggregation aufweisen. Andererseits ergibt die erhöhte Thrombozytenadhäsion dennoch einen Hinweis auf eine signifikante Plättchenaktivierung, was einen Hinweis dafür sein könnte, dass Thrombozyten vermehrt am Endothel adhären, in Komplexen gebunden werden, und daher auch für die Einleitung einer weiteren Aggregation nicht mehr vorhanden sind.

Der Einsatz von aggregationshemmenden Substanzen, die im Verbund mit einer allgemein praktizierten oralen Antikoagulation auch das Blutungsrisiko erhöhen scheint daher hinterfragenswert.

2.7 Schlußfolgerung 8 (Adhäsionsproteine?)

Geht man hypothetisch davon aus, dass Phospholipid-Antikörper-Antikörperkomplexe über Thrombomodulin endothelial an Heparane gebunden werden, so könnte man von einem vermehrten Verbrauch an Thrombomodulin im Rahmen der Komplexbildung ausgehen. Eine Reduktion oben genannter Adhäsionsproteine war jedoch nicht mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern assoziierbar.

2.8 Schlußfolgerung 9 und 14 (Thrombingeneration?)

Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper (insbesondere IgG) weisen signifikant häufiger eine erniedrigte Protein C Aktivität/Konzentration auf, als Gesunde. Dies gilt auch für reduzierte Protein S-Konzentrationen. Erklärbar ist dies dadurch, dass Phospholipid-Antikörper-Komplexe zu einem vermehrten Abbau von Protein C/S führen, sodass über einen geringeren Einfluss von aktiviertem Protein C/S auf den aktivierten Faktor V und VIII auch eine gesteigerte Thrombingeneration abgeleitet werden kann. In diesem Pathomechanismus könnte

man eine Schlüsselfunktion in der Thrombogenese von Phospholipid-Antikörpern sehen.

Im klinischen „steady state“ (Zeitpunkt zu dem die Untersuchungen durchgeführt worden waren) fanden sich jedoch keine gesteigerten Thrombingenerationsmarker. Geht man davon aus in z.B. TAT einen sensiblen Parameter für eine Gerinnungsaktivierung in vivo sehen zu dürfen, und berücksichtigt andererseits die bisherigen Erfahrungswerte, dass Phospholipid-Antikörper-Spiegel nicht das klinische Bild beeinflussen, so ist auch dieser Befund nicht weiter verwunderlich. Andererseits kann hierdurch auch als ausgeschlossen erachtet werden, dass unsere Untersuchungen zu einem für die Datenerhebung nicht validen Zeitpunkt stattfanden.

2.9 Schlußfolgerung 10 (Lupus Antikoagulanz?)

Die Koinzidenz erhöhter Phospholipid-Antikörper mit einem Lupus Antikoagulanz ist aufgrund geringer Fallzahlen nicht beurteilbar. Literaturangaben zufolge soll die Koinzidenz unterschiedlicher Phospholipid-Antikörper ein damit verbundenes höheres thrombophiles Risiko vor allem auch im arterielle Bereich bedingen (⁶⁹Junzo Nojima 1996).

2.10 Schlußfolgerung 11 (Fibrinolyse?)

Abnorme Fibrinolyseparameter sind nicht häufiger bei Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörper, als bei Gesunden nachweisbar.

Eine verminderte fibrinolytische Aktivität wurde zwar vereinzelt in solchen Fällen beschrieben (¹⁴Francis 1988), doch sprechen unsere Ergebnisse eher für eine klinisch prädominante Interaktion von Phospholipid-Antikörper mit Parametern des plasmatischen Gerinnungssystems.

2.11 Schlußfolgerung 12 (Genetik?)

Molekulargenetisch bestimmbare thrombophile Marker (Faktor V Mutation Typ Leiden; Prothrombin G 20210A Mutation) fanden sich nicht häufiger bei Personenkreisen, bei denen Phospholipidantikörper erhöht messbar waren, als bei Gesunden. Eine vielfach in der Koinzidenz mit z.B. einer Protein C-Resistenz (Faktor V Mutation Typ Leiden) (⁶⁰Smirnov 1995) begründbare erhöhte Thromboseneigung von Patienten mit Phospholipid-Antikörper kann aus unseren Daten nicht abgeleitet werden. Auch die Prothrombinvariante G 20210A findet sich nicht häufiger bei

Thrombosepatienten mit erhöhten Phospholipid-Antikörper, als bei klinisch asymptomatischen Personen mit erhöhten Phospholipid-Antikörpern. Obwohl phänotypisch eine Interaktion von Phospholipid-Antikörper mit Prothrombin zu erwarten ist, so ist die genetische Aberrante G20210A in diesem Kausalzusammenhang jedoch ohne Bedeutung.

2.12 Schlußfolgerung 13 (Blut-Rheologie?)

Veränderungen der „Blut-Rheologie“ finden sich nicht häufiger im Verbund mit erhöhten Phospholipid-Antikörper. Die Blutfluidität wird durch die Präsenz von Phospholipid-Antikörper nicht beeinflusst. Auch die Erythrozytenverformbarkeit scheint durch Phospholipid-Antikörper nicht negativ beeinflusst zu werden. Da konventionelle vaskuläre Risikofaktoren (wie z.B. erhöhte Blutfettwerte) bei symptomatischen Patienten mit erhöhten Phospholipid-Antikörper nicht vermehrt beobachtet werden im Vergleich zu Gesunden mit Phospholipid-Antikörper-Erhöpfung, und auch höhere Erythrozytenzahlen mit einer Phospholipid-Antikörper - Erhöhung nicht signifikant korrelieren, ist dieser Befund auch nicht weiter verwunderlich. Ein Therapieansatz auf rheologischer Ebene scheint daher auch nicht gerechtfertigt.

3. Abschließend

Neben der Grundlagenforschung sind auch weiterführende prospektive Studien mit großen Patientenkohorten dringend erforderlich, um weitere Erkenntnisse zu Ätiologie, Diagnose und Therapie des Phospholipid Antikörper Syndroms zu liefern.

Nur so kann eine optimale Therapie betroffener Patienten gewährleistet werden.

VI. Literaturverzeichnis

1. Levine J, Branch W, Rauch J (2002) **The Antiphospholipid Syndrome**. New England Journal of Medizin 346 (10): 752-763
2. Love PE, Santoro SA (1990) **Antiphospholipid antibodies: anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders. Prevalence and clinical significance**. Annals of Internal Medicine 112: 682-698
3. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GR (1995) **The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome**. New England Journal of Medizin 332(15): 993-997
4. Fijnheer R, Horbach DA, Donders RC, Vile H, van Oort E, Nieuwenhuis HK, Gmelig-Meijling FH, de Groot PG, Derksen RH (1996) **Factor V Leiden, antiphospholipid antibodies and thrombosis in systemic lupus erythematosus**. Thrombosis and Haemostasis 76(4): 514-517
5. Simioni P, Prandoni P, Zanon E, Saracino MA, Scudeller A, Villata S, Scarano L, Girolami B, Benedetti L, Girolami A (1996) **Deep venous thrombosis and lupus anticoagulant**. Thrombosis and Haemostasis 76(2): 187-189
6. Mateo J, Oliver A, Borrell M, Sala N, Fontcuberta J (1997) **Laboratory evaluation and clinical characteristics of 2132 consecutive unselected patients with venous thromboembolism-results of the Spanish multicentre study on thrombophilia (EMET-study)**. Thrombosis and Haemostasis 77(3): 444-451
7. Ginsberg JS, Wells PS, Brill-Edwards P, Donovan D, Moffatt K, Johnston M, Stevens P, Hirsh J (1995) **Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism**. Blood 86(10): 3685-3691
8. Oosting JD, Derksen RH, Bobbing IW, Hackeng TM, Bouma BN, de Groot PG (1993) **Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism**. Blood 81(10): 2618-2625
9. Fleck RA, Rapaport SI, Rao LV (1988) **Anti-prothrombin antibodies and the lupus anticoagulant**. Blood 72(2): 512-519
10. Bevers EM, Galli M (1990) **Beta-2-glycoprotein I for binding of anticardiolipin antibodies to cardiolipin**. Lancet 336(8720): 952-953
11. Roubey RA (1996) **Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome**. Arthritis and Rheumatism 39(9): 1444-1454
12. Sanmarco M, Gayet S, Alessi MC, Audrain M, de Maistre E, Gris JC, de Groot PG, Hachulla E, Harlé JR, Sié P, Boffa MC (2007) **Antiphosphatidylethanolamine antibodies are associated with an increased odds ratio for thrombosis. A multicenter study with the participation of the European Forum on antiphospholipid antibodies**. Thrombosis and Haemostasis 97(6): 949-954
13. Vlachoyiannopoulos PG, Samarkos M, Sikara M, Tsiligros P (2007) **Antiphospholipid antibodies: laboratory and pathogenetic aspects**. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences 44(3): 271-338
14. Francis RB, McGehee WG, Feinstein DI (1988) **Endothelial-dependent fibrinolysis in subjects with the lupus anticoagulant and thrombosis**. Thrombosis and Haemostasis 59(3): 412-414
15. Vila P, Hernandez MC, Lopez-Fernandez MF, Battle J (1994) **Prevalence, follow-up and clinical significance of the anticardiolipin antibodies in normal subjects**. Thromb Haemost 72: 209-213
16. Schved JF, Dupuy-Fons C, Biron C, Quere I, Janbon C (1994) **A prospective epidemiological study on the occurrence of antiphospholipid antibody: the Montpellier Antiphospholipid (MAP) Study**. Haemostasis 24(3):175-182
17. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T (2003) **Anti β 2 Glycoprotein I and antiprothrombin bodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome**. Blood 102: 2717-2723
18. Triplett DA (1995) **Antiphospholipid-Protein Antibodies: Laboratory Detection and Clinical relevance**. Thrombosis Research 78(1): 1-31
19. Bick RL, Arun B, Frenkel EP (1999) **Antiphospholipid-Thrombosis Syndromes**. Haemostasis 29: 100-110
20. Pangborn MC (1942) **Isolation and purification of a serologically active phospholipids from beef heart**. Journal of Biological Chemistry 143: 247 - 256
21. Wassermann A, Neisser A, Bruck C (1906) **Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis**. Deutsche Medizinische Wochenschrift 32: 745-746

22. Conley CL, Hartmann RC (1952) **A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus.** Clin Invest 152: 621-622
23. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S (1983) **Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus.** Lancet 2: 1211-1214
24. Harris EN, Gharavi AE, Patel SP, Hughes GR. (1986) **Evaluation of the anti-cardiolipin antibody test: report of an international workshop held 4 April 1986.** Clinical Exp. Immunology 68(1): 215-22
25. Feinstein DI, Rapaport SI (1972) **Acquired inhibitors of blood coagulation.** Progress in Hemostasis and Thrombosis 1: 75-95
26. Bowie EJ, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen CA (1963) **Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants.** J Lab Clin Med 62: 416-430
27. Triplet DA, Brandt JT (1988) **Lupus anticoagulants: misnomer, paradox, riddle, epiphenomenon.** Hematol Pathol 2(3): 121-143
28. Brandt JT, Triplet DA, Alving B, Scharrer I (1995) **Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update.** Thrombosis and Haemostasis 74(4): 1185-1190
29. Brandt JT, Barna LK, Triplet DA (1995) **Laboratory Identification of Lupus Anticoagulants: Results of the Second International Workshop for Identification of Lupus Anticoagulants.** Thrombosis and Haemostasis 74(6): 1597-1603
30. Pierangeli S, Vega-Ostertag M, Harris EN (2004) **Intracellular signalling triggered by antiphospholipid antibodies in platelets and endothelial cells: a pathway to target therapies.** Thrombosis Research 114: 467-476
31. Watson KV, Schorer AE (1991) **Lupus anticoagulant inhibition of in vitro prostacyclin release is associated with thrombosis-prone subset of patients.** Am J Med 90(1): 47-53
32. Triplet DA (2002) **Antiphospholipid Antibodies.** Arch Pathol Lab Med 126: 1424-1429
33. Weber M, Hayem G, DeBAndt M, Palazzo E, Roux S, Kahn MF, Meyer O (2000) **The family history of patients with primary or secondary antiphospholipid syndrome (APS).** Lupus 9(4): 258-263
34. Leroy V, Arvieux J, Jacob MC, Maynard-Muet M, Baud M, Zarski JP (1998) **Prevalence and significance of anticardiolipin, anti- β_2 glycoprotein I and anti-prothrombin antibodies in chronic hepatitis C.** British Journal of Haematology 101: 468-474
35. Kutteh WH, Franklin RD (2004) **Assesing the variation in antiphospholipid antibody (APA) assays: comparison of results from 10 centers.** American Journal of Obstetrics and Gynecology 191(2): 440-448
36. Neville C, Rauch J, Kassis J, Chang ER, Joseph L, Le Comte M, Fortin PR (2003) **Thrombophilic risk in patients with high titre anticardiolipin and multiple antiphospholipid antibodies.** Thrombosis and Haemostasis 90: 108-115
37. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, Jacobsen S, Lakos G, Tincani A, Kontopoulou-Griva I, Galeazzi M, Meroni PL, Derksen RH, de Groot PG, Gromnica-Ihle E, Baleva M, Mosca M, Bombardieri S, Houssiau F, Gris JC, Quere I, Hachulla E, Vasconcelos C, Roch B, Fernandez-Nebro A, Boffa MC, Hughes GR, Ingelmo M; Euro-Phospholipid Project Group (2002) **Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients.** Arthritis Rheum. 46(4): 1019-1027
38. Hach-Wunderle V, Müller MM, Pabinger J, Seifried E (2005) **Thrombophile Diathesen.** Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie
39. Asherson RA (1988) **A "primary" antiphospholipid syndrome?.** J Rheumatol. 15(12): 1742-1746
40. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Derksen RH, Machin SJ, Barquinero J, Outt HH, Harris EN, Vilardell-Torres M, Hughes GR (1989) **The "primary" antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features.** Medicine (Baltimore) 68(6): 366-374
41. Asherson RA, Cervera R (1994) **'Primary', 'secondary' and other variants of the antiphospholipid syndrome.** Lupus 3(4): 293-298
42. Vianna JL, Khamashta MA, Ordi-Ros J, Font J, Cervera R, Lopez-Soto A, Tolosa C, Franz J, Selva A, Ingelmo M, et al. (1995) **Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome: a European Multicenter Study of 114 patients.** Am J Med. 96(1): 3-9
43. Weber M, Hayem G, De Bandt M, Seifert B, Palazzo E, Roux S, Kahn MF, Meyer O (1999) **Classification of an intermediate group of patients with antiphospholipid syndrome and lupus-like disease: primary or secondary antiphospholipid syndrome?.** J Rheumatol 26(10): 2131-2136

44. Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Catastrophic Antiphospholipid Syndrome Registry Project Group (2003) **Catastrophic antiphospholipid syndrome: international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines.** *Lupus* 12(7): 530-534
45. Erkan D, Cervera R, Asherson RA (2004) **Catastrophic antiphospholipid syndrome: where do we stand?.** *Arthritis Rheum.* 48(12): 3320-3327
46. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey , Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA (1999) **International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop.** *Arthritis Rheum* 42(7):1309-1311
47. Lockshin MD, Sammaritano LR, Schwartzman S (2000) **Validation of the Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome.** *Arthritis Rheum* 43: 440-443
48. Harris EN, Pierangeli S (2004) **Primary, Secondary, Catastrophic Antiphospholipid Syndrome: is there a difference?.** *Thrombosis Research* 114: 357-361
49. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, DE Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA (2006) **International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS).** *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4(2): 295-306
50. Barbui T, Finazzi G., Galli M (1997) **The Antiphospholipid Antibody Syndrome.** *Hämostaseologie* 17: 14-22
51. De Groot PG, Derksen RH (2005) **Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome.** *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 3: 1854-1860
52. Barthels Monika, Von Depka Mario (eds) (2003) **Das Gerinnungskompandium.** Thieme, Stuttgart
53. Laurell A, Nilsson IM (1957) **Hypergammaglobulinemia, circulating anticoagulant, and biologic false positive Wasserman reaction.** *J Lab Clin Med* 49: 694-707
54. Galli M (1996) **Non- β_2 -glycoprotein I cofactors for the antiphospholipid syndrome.** *Lupus* 5: 388-392
55. Triplett DA (1998) **Many faces of lupus anticoagulants.** *Lupus* 7 (Suppl 2) 18-22
56. Shapiro S (1996) **The lupus anticoagulant/antiphospholipid syndrome.** *Ann Rev Med* 47: 533-553
57. McNeil HP, Chesterman CN, Krilis SA (1991) **Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies.** *Adv Immunol* 49: 193-280
58. Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJE Goudevenous J, Moutsopoulos HM (1987) **High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population.** *Clin Exp Immunol* 69: 557-565
59. Parke AL, Wisone D, Maier D (1991) **The prevalence of antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, women with successful pregnancies, and women who have never been pregnant.** *Arthritis Rheum* 34: 1231-1235
60. Smirnov MD, Triplett DT, Comp PC, Esmon NL, Esmon CT (1995) **On the role of phosphatidylethanolamine in the inhibition of activated protein C activity by antiphospholipid antibodies.** *J Clin Invest* 95: 309-316
61. Ruiz-Arguelles GJ, Ruiz-Arguelles A, Deleze M, Alarcon-Segovia D (1989) **Acquired protein C deficiency in a patient with primary antiphospholipid syndrome: relationship to reactivity of anticardiolipin activity with thrombomodulin.** *J Rheumatol* 16: 381-383
62. Jy W, Tiede M, Bidot CJ, Horstman LL, Jiminez JJ, Chirinos J, Ahn YS (2007) **Platelet activation rather than endothelial injury identifies risk of thrombosis in subjects positive for antiphospholipid antibodies.** *Thrombosis Research*
63. Moore JE, Mohr CF (1955) **Biologically false positive tests for syphilis.** *J Am Med Inform Assoc* 150: 467-473
64. Schulman S, Svenungsson E., Granqvist S, Duration of anticoagulation Study Group. (1998) **Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy.** *Am J Med* 104: 332-338
65. Feinbloom D, Bauer KE (2005) **Assesment of hemostatic risk factors in predicting arterial thrombotic events.** *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 25: 2043-2053
66. Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, Finazzi G, Brancaccio V, Moia M, Ciaverella N, Mazzucconi MG, Schinco PC, Ruggeri M, Pogliani EM, Gamba G, Rossi E, Baudo F, Manotti C, D'Angelo A, Palareti G, De Stefano V, Berrettini M, Barbui T (1996) **Natural history and risk factors for thrombosis in 360 patients with antiphospholipid antibodies: a five year prospective study from the italian registry.** *Am J Med* 100: 530-536

67. Pasquier Elisabeth, Amiral Jean, de Saint Martin Luc, Mottier Dominique (2001) **A Cross Sectional Study of Antiphospholipid-protein Antibodies in Patients with Venous Thromboembolism.** Thrombosis and Haemostasis 86: 538-42
68. Warkentin TE, Aird WC, Rand JH (2003) **Platelet-Endothel Interactions: Sepsis, HIT, and Antiphospholipid Syndrome.** Hematology
69. Junzo Nojima, Etsuji Suehisa, Naoki Akita, Masayuki Toku, Ryo Fushimi, Hisato Tada, Hirohiko Kuratsune, Takashi Machii, Teruo Kitani, Nobuyuki Amino (1996) **Risk of arterial thrombosis in patients with anticardiolipin antibodies and lupus anticoagulant.** British Journal of Haematology 96: 447-450

VII. Publikationen

Lawall H, Hoffmanns W, Hoffmanns P, Rapp U, **Ames M**, Pira A, Paar WD, Bramlage P, Diehm C.
Prevalence of deep vein thrombosis (DVT) in non-surgical patients at hospital admission.
Thromb Haemost. 2007 Oct;98(4):765-70.

Schroder F, Diehm N, Kareem S, **Ames M**, Pira A, Zwettler U, Lawall H, Diehm C.
A modified calculation of ankle-brachial pressure index is far more sensitive in the detection of peripheral arterial disease.
J Vasc Surg. 2006 Sep;44(3):531-6.

Ruf M, Stoltze D, Merk HR, **Ames M**, Harms J.
Treatment of vertebral osteomyelitis by radical debridement and stabilization using titanium mesh cages.
Spine. 2007 Apr 20;32(9):E275-80.

Stass U., Petrescu-Jipa M., **Ames M.**, Schenk J.F.:
On the role of platelet count, and platelet size in patients with clinically apparent and spontaneous venous/arterial thrombotic complications.
Hämostaseologie 1/2004; 65: P 106 (CD)

Schenk J.F., **Ames M.**, Ihle A., Seyfert U.:
On the thrombophilic risk of platelets in patients with venous and arterial thrombotic diseases – a prospective case cohort study.
Transfusion Medicine 2003, 30 (1): IV + 60: P 7.0

Schenk J.F., **Ames M.**, Seyfert U., Stephan B., Pindur G.:
Is the platelet aggregation assay (PAT III) affected by homocysteine and suited for the discrimination of thrombotic patients from healthy controls.
Transfusion Medicine 2003, 30 (1): IV + 60: P 7.03

Schenk J.F., **Ames M.**, Stephan B.:
On the role of platelet count (PC), mean platelet volume (MPV), and platelet function in patients with thrombotic diseases.
Annals of Hematology 2003; 82 (Suppl. 1): 259

Schenk J.F., **Ames M.**, Stephan B., Seyfert U.T., Pindur G.:
Hyperaggregability of platelets – a cause of thrombophilia. Evaluation of platelet function in patients with spontaneous thrombotic events.
Annals of Hematology 2003; 82 (Suppl. 1): 260

Schenk J.F., Ihle A., Dobonici M., **Ames M.**:
Homocysteine – influence on platelet aggregation and platelet adhesion – evidence and relevance in patients with venous/arterial disorders.
Annals of Hematology 2003; 82 (Suppl. 1): 261

Schenk J.F., Hopp S., **Ames M.**, Stephan B., Wenzel E., Seyfert U.T.:
Computer assisted thrombelastography (“ROTEG”) for monitoring factor XIII recovery in a case of hereditary factor XIII deficiency.
Infusion Therapy and Transfusion Medicine 2002; 29 (Sonderheft 1): VI +74, 59 (P6.09)

Schenk J.F., Seyfert U.T., **Ames M.**, Mörsdorf S., Pindur G., Wenzel E.:
On the influence of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism on platelet function in thrombophilic patients and asymptomatic individuals.
Annals of Hematology 2002; Suppl. 1, Vol. 81: 283

Ames M., Erdlenbruch K., Seyfert U., Schenk J.:

On the predictive value of laboratory assays and diagnostic aspects of phospholipid antibodies (PLA).

DGTI Mannheim 2004, SP305

Ames M., Stephan B., Ihle A., U.T. Seyfert, Schenk J.F.:

Evidence of C677T methyltetra-hydrofolate reductase ("MTHFR") and hyperhomocysteinemia (H) – causal of casual coexisting risk factors ?

ISTH Birmingham 2003, P0368 (CD)

Schenk J.F., Ames M., Pindur G., Stephan B., Seyfert U.T.:

Thrombophilia – from the roots to the base of evidence. Preliminary results on platelet function and rheologic parameters and the necessity of prospective multicentre cohort trials.

ISTH Birmingham 2003, CD 128

Schenk J.F., Ames M., Pindur G., Stephan B., Seyfert U.T.:

On the role of platelets, and homocysteine in thrombotic patients, healthy controls and mutant carriers of methyltetrahydro-folate reductase ("MTHFR") (C677T).

ISTH Birmingham 2003, P1823.09

Ihle A., Ames M., Stephan B., Erdlenbruch K., Schenk J.:

C677T MTHFR variants and hyperhomocysteinemia - causal or casual thrombophilic risk variables.

DGTI Mannheim 2004, PS206

Schenk J., Ames M., Ihle A., Stephan B., Seyfert U.:

On the interaction of defected C677T MTHFR gene and hyperhomocysteinemia on platelet function in healthy individuals and patients with single and recurrent thrombotic vascular diseases.

DGTI Mannheim 2004, PS207

Stass U., Stephan B., Ames M., Dobonici M., Schenk J.:

Is the platelet count and platelet size of significance in patients with thrombotic diseases.

DGTI Mannheim 2004, PS208

Schenk J., Stephan B., Stass U., Ames M., Pindur G.:

Platelet function and vascular risk factors in healthy individuals and patients with venous thrombotic vascular diseases.

DGTI Mannheim 2004, PS209

VIII. Dank

"Geduld, mit der Zeit wird aus Gras Milch"
(chinesisches Sprichwort)

"An schlechten Tagen ist die Aussicht auf
bessere Tage besser als an guten ..."
(Werner Mitsch)

Mein Dank gilt meinen Eltern Heinz und Burga Ames, meiner Schwester Beate Braun und Ihrem Mann Alexander Braun sowie PD. Dr. Joachim Schenk und seinem Team.

Ohne meine verständnisvolle Familie und die Hilfe eines kooperierenden Teams, sowie die außerordentlich kompetente und allzeit hilfsbereite Unterstützung meines Doktorvaters, wäre es mir nicht möglich gewesen auch an schlechten Tagen die nötige Geduld aufzubringen, diese Arbeit zu vollenden.

Michael Ames

Homburg den 01.10. 2008

IX. Lebenslauf

- Schulabschluss: Juli 1986, **Abitur**, Droste-Hülshoff-Gymnasium, Meersburg
- Wehr-/Ersatzdienst: Januar bis März 1987 **Wehrdienst**, Marineschule Eckernförde, April 1987 bis August 1988 **Zivildienst**, individuelle Schwerst-Behindertenbetreuung, Arbeiterwohlfahrt Friedrichshafen
- Tischlerlehre: September 1988 bis März 1989 **Tischlerlehre** ohne Abschluss
- Krankenpflegeausbildung April 1989 bis März 1992 mit Abschluss als **examiniertes Krankenpfleger**
- Berufstätigkeit: Juni 1992 bis Oktober 1992, **Krankenpfleger**, Universitätsspital Zürich
- Dezember 2005 - September 2007, **Arzt, Innere Medizin**, Klinikum Karlsbad-Langensteinbach
- Oktober 2006 bis März 2008, **Arzt, Chirurgie**, Krankenhaus Isny
- Seit April 2008, **Arzt, Orthopädie**, Klinikum Karlsbad-Langensteinbach
- Medizin-Studium: Oktober 1992 bis Oktober 2004, **Universität des Saarlandes**
Oktober 2004 bis Oktober 2005, Praktisches Jahr am Klinikum Karlsbad-Langensteinbach (Lehrkrankenhaus der **Universität Heidelberg**)
- Wissenschaft: Juni 1996 bis September 1998: onkologisches Labor der Universität des Saarlandes (Prof. Dr. M. Pfreundschuh): **Nachweis bimolekularer Antikörper mittels ELISA**
- seit März 1999: Zusammenarbeit mit Privatdozent Dr. J.F. Schenk im Institut für Hämostaseologie und Transfusionsmedizin der Universität des Saarlandes: **Mitbetreuung von Doktoranden bei der Planung und Durchführung retrospektiver und prospektiver Studien, sowie deren statistischer Auswertung**
- seit 2000: **selbständige unentgeltliche Doktorandenunterstützung aus unterschiedlichen Fachbereichen** wie Chirurgie, Kardiologie, Psychiatrie usw. bei der statistischen Auswertung ihrer ermittelten Daten.
- seit April 2005 Zusammenarbeit mit Privatdozent Dr. M. Ruf und Professor Dr. J. Harms Abteilung für Orthopädie I, Dr. A. von Stockert Abteilung für Orthopädie II und Professor Dr. C. Diehm Abteilung für Innere Medizin am Klinikum Karlsbad-Langensteinbach: **Mitbetreuung von Doktoranden bzw. Mithilfe bei der Planung und Durchführung retrospektiver und prospektiver Studien, sowie deren statistischer Auswertung**