

Frauenklinik und Poliklinik
der Technischen Universität München,
Klinikum rechts der Isar
(Direktorin: Univ.-Prof. Dr. M. B. Kiechle)

Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen bei hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen

Katja Maren Seemund

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. M. Kolben

2. Univ.-Prof. Dr. Chr. Peschel

Die Dissertation wurde am 21.05.2003 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 15.10.2003 angenommen.

In Erinnerung an meinen Vater

Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung	5
1.1	Definition hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft	5
1.2	Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen	6
1.3	Zielsetzung der Arbeit	10
2	Methode	12
2.1	Patientengut	12
2.2	Molekularbiologische Untersuchungen	12
2.2.1	DNA-Präparation	13
2.2.2	Faktor-V-Leiden Mutation	13
2.2.3	Prothrombin-G20210A Mutation	14
2.2.4	MTHFR-C677T Mutation	15
2.2.5	Statistische Auswertung	15
3	Ergebnisse	16
3.1	Patientengut	16
3.2	Genetische Untersuchungen	20
3.2.1	Faktor-V-Leiden Mutation	20
3.2.2	Prothrombin-G20210A Mutation	21
3.2.3	MTHFR-C677T Mutation	22
3.3	Zusammenfassung	23
4	Kasuistiken	25
4.1	HELLP-Syndrom bei homozygoter Prothrombin-G20210A Mutation	25
4.2	HELLP-Syndrom ohne nachweisbare Mutationen im Bereich der plasmatischen Gerinnung	26
5	Diskussion	27
5.1	Literatur zum Thema	27

5.2 Methode	32
5.2.1 Auswahl der Methode	32
5.2.2 Einschlusskriterien der Studie	34
5.2.3 Molekularbiologische Untersuchungen	34
5.2.4 Statistische Auswertung	35
5.3 Untersuchtes Patientinnenkollektiv	35
5.4 Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen	37
5.5 Früherkennungsuntersuchungen	42
6 Ausblick	44
7 Zusammenfassung	45
8 Verzeichnis verwendeter Literatur	46
9 Anhang	54
9.1 Erhebungsbogen	54
9.2 Einverständniserklärung	56
9.3 Abbildungsverzeichnis	57
9.4 Abkürzungsverzeichnis	58
Danksagung	59
Lebenslauf	60

1 Einleitung

Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen wie Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom gehören mit einer Häufigkeit von sechs bis acht Prozent (ACOG technical bulletin, 1996) zu den häufigsten geburtshilflichen Komplikationen. Sowohl die maternale als auch die perinatale Mortalität und Letalität sind signifikant erhöht.

Fragen zum Themenkomplex der hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen sind nicht zuletzt aufgrund ihrer großen epidemiologischen Bedeutung seit vielen Jahren Gegenstand intensiver medizinischer Forschung. In letzter Zeit rückt dabei vor allem die Suche nach und die Bewertung von pathogenetischen Faktoren dieser Erkrankungen in den Vordergrund.

Die vorliegende Arbeit untersucht Zusammenhänge zwischen Gerinnungsanomalien, der Faktor-V-Leiden, der Prothrombin-G20210A und der MTHFR-C667T Mutation, und dem Auftreten von Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom.

1.1 Definition hypertensiver Erkrankungen in der Schwangerschaft

Im Rahmen der Literaturrecherche fällt auf, dass keine einheitliche Definition schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen existiert. Mehrere Klassifikationen werden weltweit parallel verwendet. Vielfach sind die Grenzwerte nicht exakt definiert (North et al, 1999).

Der vorliegenden Arbeit wird die 1996 vom ACOG technical bulletin veröffentlichte Definition schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen zugrunde gelegt. Danach spricht man ab einem systolischen Blutdruckwert von 140 mmHg oder einem diastolischen Wert von 90 mmHg von schwangerschaftsinduzierter Hypertonie, falls vor Eintreten der Schwangerschaft die Blutdruckwerte im Normbereich lagen.

Eine Präeklampsie ist definiert als Kombination einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie mit den oben genannten Grenzwerten und zusätzlicher Proteinurie von mindestens 0,3 g / 24 h. Erreicht oder übersteigt der systolische Blutdruck Werte von 160 mmHg oder der diastolische Werte von 110 mmHg, kommt es zu einer Proteinurie von mindestens 5 g / 24 h, einer Oligurie von weniger als 400 ml / 24 h oder treten Thrombo-

zytopenie, erhöhte Aminotransferasen, erhöhtes Serumkreatinin, Hyperreflexie, Kopfschmerzen, Sehstörungen, Oberbauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen oder intrauterine Wachstumsretardierung auf, so spricht man von einer schweren Präeklampsie. Im Falle eines zusätzlich auftretenden, generalisierten tonisch-klonischen Krampfanfalles liegt schließlich als schwerste Form eine Eklampsie vor. Es muss beachtet werden, dass dieser Anfall sowohl prä- als auch intra- oder postpartal auftreten kann (ACOG technical bulletin, 1996; Dürig, 2000). Epidemiologisch wird eine Gesamthäufigkeit zwischen 1:200 bis 1:3000 angegeben (Witlin et al, 1999).

Das HELLP-Syndrom stellt eine besonders schwere Verlaufsform der Präeklampsie dar (Weinstein, 1987). Dabei steht ‚H‘ für eine durch mechanisch-hypoxische Schädigung der Erythrozyten in der terminalen Endbahn bedingte Hämolyse, ‚EL‘ für ‚elevated liver enzymes‘, also eine Erhöhung der Transaminasen infolge von Leberzellnekrosen und ‚LP‘ für ‚low platelets‘, das heißt eine Thrombozytopenie unter 100.000 / μ l als Folge einer thrombininduzierten intravasalen Gerinnungsaktivierung mit Verbrauch der Plättchen in der Peripherie (Reiser et al, 1999). Für eine Mitbeteiligung von Endorganen sprechen Kopfschmerz, Augenflimmern und rechtsseitige Oberbauchschmerzen. Das HELLP-Syndrom tritt mit einer Häufigkeit von 1:150 bis 1:300 Geburten auf. Die mütterliche Sterblichkeit beträgt bis zu 3,5 Prozent, die kindliche Mortalität wird in der Literatur mit bis zu 24,2 Prozent beschrieben (Reiser et al, 1999).

1.2 Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen

Die Physiologie der plasmatischen Gerinnung lässt sich im Wesentlichen als Abfolge von drei Phasen beschreiben: Auf die Aktivierungsphase, in der als letzter Schritt einer kaskadenartigen Reaktionsabfolge der als Prothrombin bezeichnete Faktor II unter Einwirkung verschiedener Gerinnungsfaktoren, unter anderem von Faktor Va und Kalzium in Thrombin überführt wird, folgt die Koagulationsphase mit der Umwandlung von Fibrinogen in lösliches Fibrin durch Thrombin und schließlich eine Retraktionsphase, in der das lösliche Fibrin zu Polymeren vernetzt wird. Wichtige Hemmfaktoren dieses Systems sind unter anderem Antithrombin III, Protein C und Protein S (Bakowsky-Enzian, 1999; Witt und Zimmer, 1986).

Die folgende Abbildung zeigt die Position der für die vorliegende Untersuchung bedeutenden Faktoren Va, Protein C und Prothrombin in diesem System. Bezüglich näherer Betrachtungen zur Gerinnungsphysiologie muss auf die vorhandene Fachliteratur verwiesen werden (Müller-Berghaus und Pötzsch, 1999; Greger und Windhorst, 1996). Im folgenden soll ausschließlich die Funktion und Pathophysiologie dieser drei genannten Faktoren weiter besprochen werden.

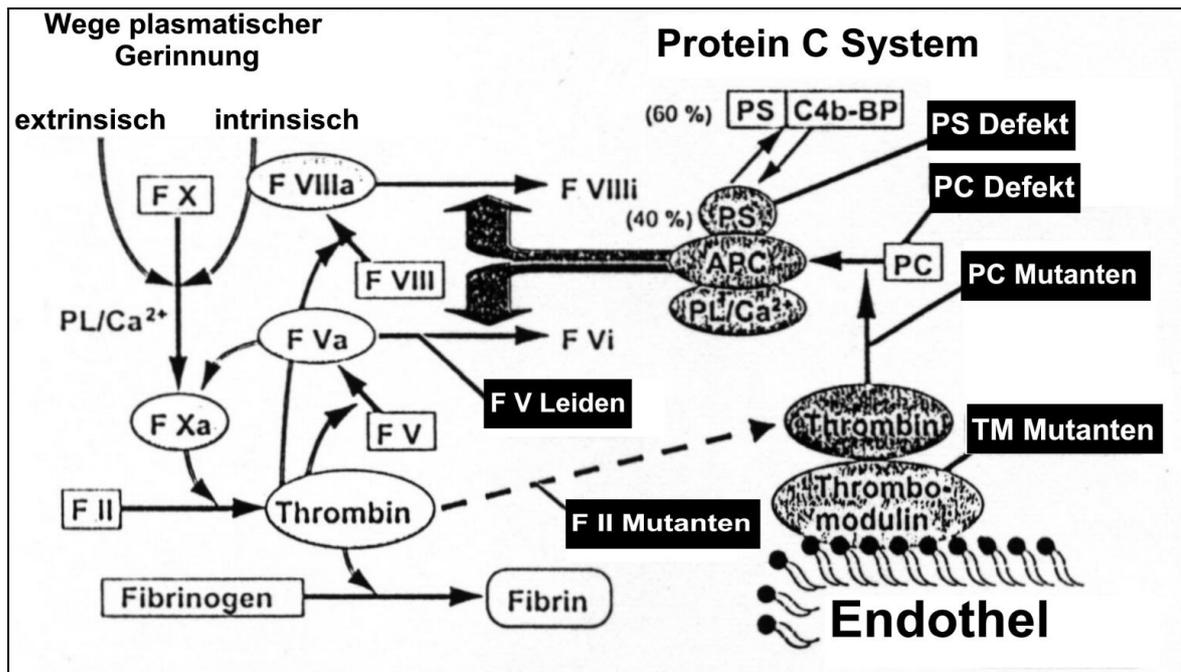


Abb.1 Angeborene Defekte, die den antikoagulatorischen Mechanismus des Protein C beeinflussen

PC = Protein C, PS = Protein S, TM = Thrombomodulin
(nach Kraus, 1998)

Der Faktor Va hat als Bestandteil des Prothrombin aktivierenden Komplexes eine zentrale Bedeutung sowohl für die Aktivierung der Gerinnung als auch für deren Hemmung, indem er durch aktiviertes Protein C (APC) inaktiviert wird. APC spaltet Faktor Va an drei Stellen, Arg 306, Arg 506 und Arg 679. Findet ein Austausch von Arginin 506 durch Glutamin statt, so kann der Faktor Va nur stark verlangsamt durch APC inaktiviert werden, was als APC-Resistenz bezeichnet wird. Für diese seit 1994 bekannte, nur bei Kaukasiern vorkommende und nach dem Ort ihrer Entdeckung Faktor-V-Leiden Mutation genannte Veränderung, einer ca. 25000 Jahre alten Punktmutation, wird in Mitteleuropa eine Prävalenz von fünf bis sieben Prozent angegeben. Heterozygote Anlageträger haben im Vergleich zur Normalbevölkerung ein fünf- bis zehnfach erhöhtes Thromboserisiko, bei Homozygoten ist das Risiko bis zu 80-fach erhöht.

Die Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin stellt den Endpunkt der Aktivierungskaskade der plasmatischen Gerinnung dar. Die Prothrombin-G20210A Mutation, welche einen Austausch von Guanin durch Adenin bewirkt, ist mit einer erhöhten Prothrombinaktivität im Plasma und dadurch mit einer Hyperkoagulabilität assoziiert. Sie kommt mit einer Häufigkeit von ein bis vier Prozent in der Normalbevölkerung vor. Für Patientenkollektive mit einer erhöhten Thromboseneigung werden Prävalenzen von sieben bis 20 Prozent angegeben. Heterozygote Träger der Mutation haben ein zwei- bis fünffach gesteigertes Thromboserisiko, homozygote Träger sogar eine über hundertfach erhöhte Wahrscheinlichkeit, an einer Thrombose zu erkranken. Auch ein hereditärer Mangel an Protein C, Protein S oder Antithrombin III führt zu einer stark erhöhten Thromboseneigung, das Lebenszeitrisiko wird hier mit 60 bis 80 Prozent angegeben (Lockwood, 2001; Girling et al, 1998).

Neben den dargestellten Mutationen im Bereich der Kaskade der plasmatischen Gerinnung wird die Hyperhomozysteinämie als weitere wichtige Ursache für eine Hyperkoagulabilität angesehen (Pabinger-Fasching, 1999). Häufigste Ursache dieser Stoffwechselstörung ist ein Polymorphismus im Gen für die Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR), wobei eine Punktmutation von C zu T im Position 677 zum Austausch der Aminosäure Alanin durch Valin führt. Das so veränderte Enzym zeichnet sich durch Thermolabilität und konsekutiv durch verminderte Aktivität aus. Funktion der Methylentetrahydrofolatreduktase ist die Folsäure- und Vitamin B12-abhängige Remethylierung von Homozystein zu Methionin. Die homozygote Mutation führt zu einer Akkumulation von Homozystein (Linfert und Tsonalis, 2001). Abb.2 veranschaulicht diesen Sachverhalt.

Die Häufigkeit der homozygoten MTHFR-C677T Mutation wird mit durchschnittlich elf Prozent angegeben. Diese führt zu einem erhöhten Risiko für Atherosklerose, Thromboembolie und rezidivierende Aborte (Lockwood, 2001 und 2002). Pabinger-Fasching gibt die Prävalenz der Hyperhomozysteinämie bei venösen Thrombosen mit bis zu 25 Prozent an (1999).

Genetische Veränderungen verschiedener Gerinnungsfaktoren, insbesondere die Faktor-V-Leiden und die Prothrombin-G20210A Mutationen sowie die MTHFR-C677T Mutation, die auch außerhalb der Schwangerschaft mit einem erhöhten Risiko für thromboembolische Komplikationen einhergehen, können in bis zu 30 Prozent mit schwangerschaftsinduzierten hypertensiven Erkrankungen sowie mit einem für thrombophile Dia-

these während der Gravidität angegebenen Risiko von bis zu 51 Prozent assoziiert sein (Kupferminc et al, 1999; Van Pampus et al, 1999).

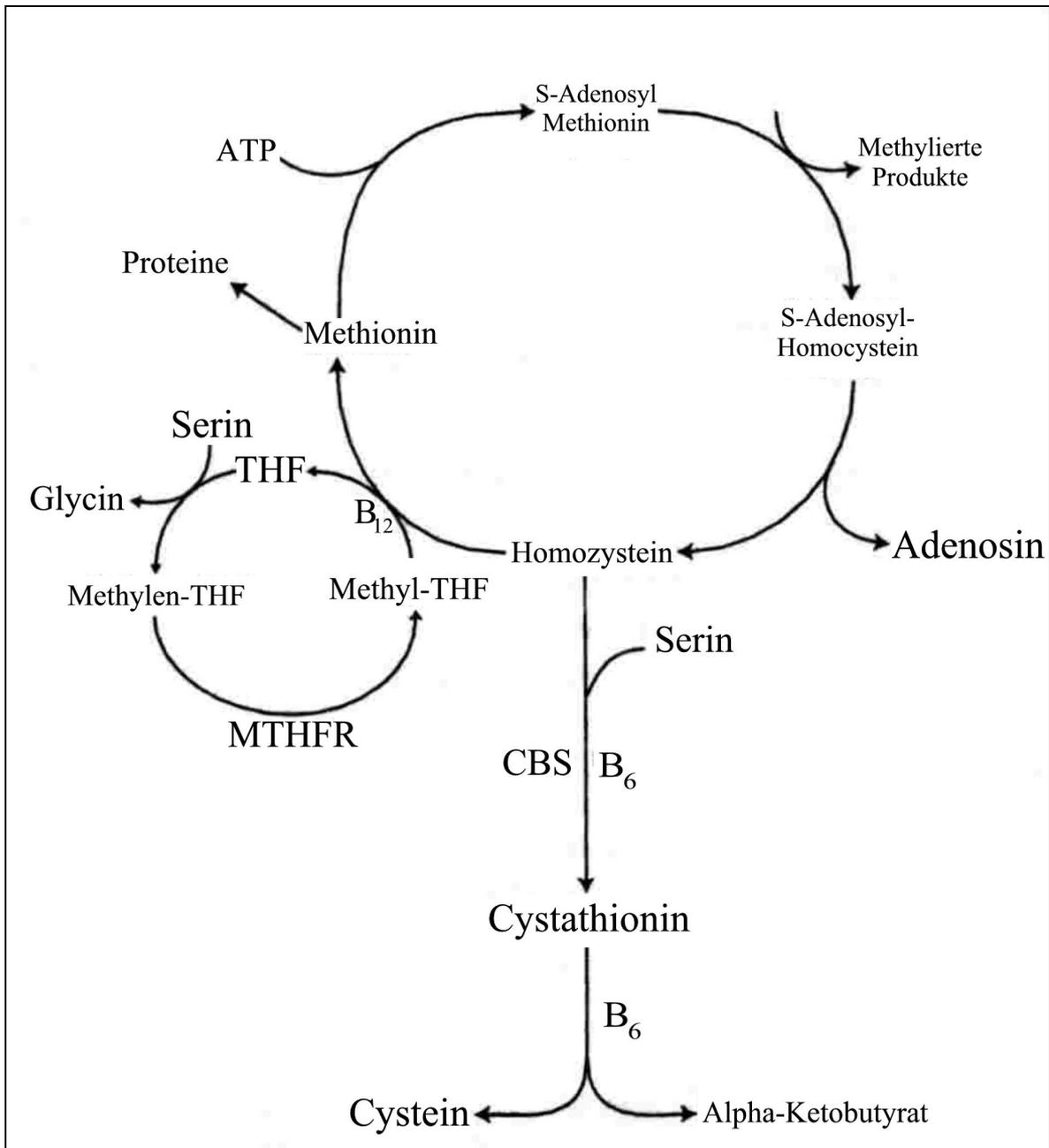


Abb.2 Schematische Darstellung des Methionin-Stoffwechsels
 CBS = Cystathionin B-Synthase, THF = Tetrahydrofolat, ATP = Adenosin Triphosphat,
 MTHFR = Methylentetrahydrofolat Reduktase
 (nach Linfert und Tsongalis, 2001)

Die Frage nach der Pathogenese schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen ist noch weitgehend ungeklärt. Es existieren hierzu mehrere Theorien (Übersicht siehe Kolben, 1997):

Ein Fehler in der mütterlichen Genexpression soll Haig zufolge die Entwicklung des Trophoblasten stören (1993).

Lorentzen et al führen den Ausbruch der Erkrankung auf einen Anstieg freier Fettsäuren verbunden mit einem relativen Mangel an Albumin im mütterlichen Blut zurück (1994).

Eine weitere Theorie sieht in einer immunologischen Fehlreaktion auf verschlepptes Throphoblastgewebe mit der Folge einer Dysfunktion der Endothelzellen einen möglichen pathogenetischen Mechanismus (Loke et al, 1997; Shorter et al, 1993).

Schließlich wird vermutet, dass Mikrothromben in den uteroplazentaren Arterien und im intervillösen Raum eine plazentare Hypoxie induzieren (van Pampus et al, 1999; Pijnenborg et al, 1991). Eine Forschergruppe aus Großbritannien glaubt in diesem Zusammenhang, dass es durch die Ischämie der Plazenta zur vermehrten Verschleppung von Trophoblastgewebe kommt. Diese Mikropartikel sollen dann wiederum zu einer endothelialen Zelldysfunktion führen (Smarason et al, 1993; Chua et al, 1991).

Keine der Theorien konnte bisher bestätigt werden. Der genaue Mechanismus, über den es zu einer Manifestation des klinischen Bildes kommt, ist jedoch bislang ungeklärt (Dekker et al, 1998).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Die Übersicht der aktuellen Arbeiten, die sich mit der Frage eines Zusammenhangs zwischen einer Faktor-V-Leiden, einer Prothrombin-G20210A oder einer MTHFR-C677T Mutation und schwangerschaftsassozierten hypertensiven Erkrankungen beschäftigen, zeigt wesentliche Unterschiede sowohl im strukturellen Aufbau der Untersuchungen als auch im Ergebnis (vergleiche hierzu Tabelle 1 in Abschnitt 5.1). Aus diesem Grunde erscheint es sinnvoll, einen möglichen Zusammenhang erneut im Rahmen einer klinischen Studie zu überprüfen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, eine ausreichend große Anzahl an Frauen, die nach offizieller Definition des ACOG technical bulletins entweder an einer schweren Präeklampsie, einer Eklampsie oder einem HELLP-Syndrom in mindestens einer Schwangerschaft leiden oder gelitten haben auf alle drei Mutationen zu untersuchen.

Das Ergebnis soll einen Beitrag zur aktuellen wissenschaftlichen Diskussion leisten und Hilfestellung bei der Beantwortung der Frage geben, ob eine generelle Untersuchung dieser Veränderungen in Form eines Screenings im Rahmen der Schwangerenvorsorge mit dem Ziel einer Senkung der maternalen und perinatalen Mortalität durch frühzeitige intensive Überwachung und rasche Therapiemaßnahmen sinnvoll ist.

2 Methode

2.1 Patientengut

In die Studie aufgenommen wurden Frauen, die prä-, peri- oder postpartal in mindestens einer Schwangerschaft an einer schweren Präeklampsie, einer Eklampsie oder einem HELLP-Syndrom erkrankt sind oder waren. Den Krankheitsbildern wurde dabei die im Abschnitt 1.1 erläuterte Definition des ACOG technical bulletin aus dem Jahre 1996 zugrunde gelegt.

Das Studienkollektiv setzt sich aus derzeitigen oder ehemaligen Patientinnen der Frauenklinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München sowie Mitgliedern der Arbeitsgemeinschaft Gestose-Frauen e.V. – 47661 Issum zusammen. Innerhalb des Zeitraumes von Mai 1999 bis April 2001 konnten insgesamt 105 Frauen aus dem Einzugsgebiet Bayern und Süd-Baden-Württemberg rekrutiert werden.

Nach schriftlicher oder telefonischer Kontaktaufnahme wurden die Studienteilnehmerinnen zur Studienaufklärung und –einwilligung, Anamneseerhebung sowie Blutentnahme einbestellt oder besucht.

Mit Hilfe eines eigens entworfenen Anamnesebogens, im Anhang unter 7.1 wiedergegeben, wurden neben den persönlichen Daten Angaben zu aktuellen und früheren Schwangerschaften erhoben. Dabei waren vor allem Aborte, Schwangerschaftsverlauf, Komplikationen und die Umstände der Entbindung von Interesse. Zuletzt wurde von allen Teilnehmerinnen 10 ml EDTA-Blut für die DNA-Analyse entnommen.

Abschließend erfolgte nach Kontaktaufnahme mit den betreuenden Gynäkologen oder Fachkliniken anhand der erhobenen Daten die diagnostische Zuordnung zu den entsprechenden Krankheitsbildern.

2.2 Molekularbiologische Untersuchungen

Die molekularbiologischen Untersuchungen erfolgten alle am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München.

2.2.1 DNA-Präparation

Grundlage aller Untersuchungen ist genomische DNA, die aus Vollblut in Form von EDTA- oder Zitratblut unter Verwendung eines kommerziellen Extraktionskits isoliert wird.

2.2.2 Faktor-V-Leiden Mutation

Die Genotypisierung hinsichtlich der Punktmutation G1691A im Exon 10 des Gens für den Gerinnungsfaktor V wird nach dem Prinzip des Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) durchgeführt. Durch PCR-Amplifikation eines die polymorphe Nukleotidposition enthaltenden Bereiches wird, unabhängig vom Genotyp, ein Amplifikat mit einer Länge von 224 Basenpaaren (bp) generiert. Innerhalb dieser Sequenz befinden sich im Normalfall (G1691, Wildtyp) zwei Erkennungssequenzen für das Restriktionsenzym Mnl I, einer Endonuklease aus *Moraxella nonliquefaciens*, von denen eine durch die G1691A-Mutation verloren geht. Bei Inkubation des Amplifikates mit dem Enzym Mnl I entstehen daher aus einem normalen Allel (Wildtyp) drei Restriktionsfragmente mit Längen von 142, 45 und 37 bp, während ein Allel, das die Faktor-V-Leiden Mutation trägt, nur zwei Fragmente mit Längen von 142 und 82 bp liefert. Die Restriktionsfragmente werden mittels Agarose-Gel-Elektrophorese getrennt und nach Ethidiumbromid-Färbung des Gels im UV-Licht sichtbar gemacht. Der Genotyp ergibt sich aus dem Bandenmuster: Drei Banden mit 142, 45 und 37 bp kennzeichnen eine Homozygotie für G1691, vier Banden mit 142, 82, 45 und 37 bp eine Heterozygotie und zwei Banden mit 142 und 82 bp eine Homozygotie für A1691. Letztere Konstellation entspricht der Faktor-V-Leiden Mutation (Bertina et al, 1994).

Die Methode ist seit 1995 am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München etabliert. Eine externe Qualitätskontrolle wird zweimal pro Jahr im Rahmen der Ringversuche der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie durchgeführt.

2.2.3 Prothrombin-G20210A Mutation

Die Genotypisierung hinsichtlich der Mutation G20210A im untranslatierten 3'-Bereich des Gens für den Gerinnungsfaktor II (Prothrombin) wird ebenfalls nach dem Prinzip des Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) unter Einsatz eines mutagenen Primers durchgeführt. Durch PCR-Amplifikation eines die polymorphe Nukleotidposition des Gens enthaltenden Bereiches wird, unabhängig vom Genotyp, ein Amplifikat mit einer Länge von 243 Basenpaaren (bp) generiert. Innerhalb des Amplifikates befindet sich im Normalfall (G20210, Wildtyp) eine Sequenz, die in zwei Positionen, darunter die Position 20210, von der Erkennungssequenz für das Restriktionsenzym Hind III, einer Endonuklease aus *Haemophilus influenzae* Rd, abweicht. Bei Vorliegen der Mutation (A20210) stimmt auch Position 20210 mit der Hind-III-Erkennungssequenz überein, so dass in diesem Fall nur eine Position von der Hind-III-Sequenz abweicht. Diese zweite, von der Hind-III-Sequenz abweichende Nukleotidposition wird durch einen von der normalen Gensequenz abweichenden „mutagenen“ Primer in allen Amplifikaten „korrigiert“, d.h. der Hind-III-Sequenz angeglichen, so dass Amplifikate mit A20210 die komplette Hind-III-Erkennungssequenz tragen. Bei Inkubation des Amplifikates mit dem Enzym Hind III bleibt daher ein normales Allel (G20210, Wildtyp) unverändert, während ein Allel, das die Mutation (A20210) trägt, gespalten wird und zwei Restriktionsfragmente mit Längen von 220 und 23 bp liefert. Die Restriktionsfragmente werden mittels Agarose-Gel-Elektrophorese getrennt und nach Ethidiumbromid-Färbung des Gels im UV-Licht sichtbar gemacht. Der Genotyp ergibt sich wiederum aus dem Bandenmuster: Eine Bande mit 243 bp entspricht einer Homozygotie für G20210 (Wildtyp), drei Banden mit 243, 220 und 23 bp einer Heterozygotie und zwei Banden mit 220 und 23 bp einer Homozygotie für A20210 (Poort et al., 1996).

Die Methode ist seit 1996 am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München etabliert. Eine externe Qualitätskontrolle wird ebenfalls in halbjährigen Abständen mittels Ringversuchen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie gewährleistet.

2.2.4 MTHFR-C677T Mutation

Auch die Genotypisierung hinsichtlich der Mutation C677T im Gen für die Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) wird nach dem Prinzip des Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) durchgeführt. Durch PCR-Amplifikation eines die polymorphe Nukleotidposition enthaltenden Bereiches wird, unabhängig vom Genotyp, ein Amplifikat mit einer Länge von 198 Basenpaaren (bp) generiert. Innerhalb dieses Amplifikates befindet sich im Normalfall (C677, Wildtyp) eine Nukleotidsequenz, die nur in Position 677 von der Erkennungssequenz für das Restriktionsenzym Hinf I, einer Endonuklease aus *Haemophilus influenzae* Rf, abweicht. Bei Vorliegen der Mutation (T677) ist die komplette Hinf-I-Sequenz vorhanden. Bei Inkubation des Amplifikates mit dem Enzym Hinf I bleibt daher ein normales Allel (C677, Wildtyp) unverändert, während ein Allel, das die Mutation (T677) trägt, gespalten wird und Fragmente mit Längen von 175 und 23 bp liefert. Die Restriktionsfragmente werden mittels Agarose-Gel-Elektrophorese getrennt und nach Ethidiumbromid-Färbung des Gels im UV-Licht sichtbar gemacht. Der Genotyp ergibt sich aus dem Bandenmuster: Eine Bande mit 198 bp entspricht einer Homozygotie für C677, drei Banden mit 198, 175 und 23 bp einer Heterozygotie und zwei Banden mit 175 und 23 bp einer Homozygotie für T677 (Frosst et al, 1995).

Die Methode ist seit 1996 am Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München etabliert. Eine externe Qualitätskontrolle wird regelmäßig zweimal pro Jahr mittels Ringversuchen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie gewährleistet.

2.2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit Microsoft Excel Version 8.0 für Windows und dem Statistik-Programm-System für die Sozialwissenschaften (SPSS), Version 10.0 für Windows. Die Auswertung ist dabei primär deskriptiv und der analytische Teil beschränkt sich auf die Berechnung von Häufigkeitsverteilungen und deren Bewertung mittels Chi-Quadrat-Tests.

3 Ergebnisse

3.1 Patientengut

Im Folgenden sollen die aus der Anamnese der insgesamt 105 rekrutierten Patientinnen erhobenen Daten zusammengefasst und statistisch ausgewertet werden.

Da sich das Patientengut sowohl aus aktuell als auch aus früher erkrankten Patientinnen zusammensetzt, wurde anstelle des Alters der Patientinnen das Alter bei Ersterkrankung erhoben. Zu diesem Zeitpunkt waren die Betroffenen zwischen 18 und 43 Jahren alt. Das durchschnittliche Alter belief sich auf 29,9 Jahre (Median 30 Jahre). Abb.3 zeigt die Altersverteilung nach Klassen.

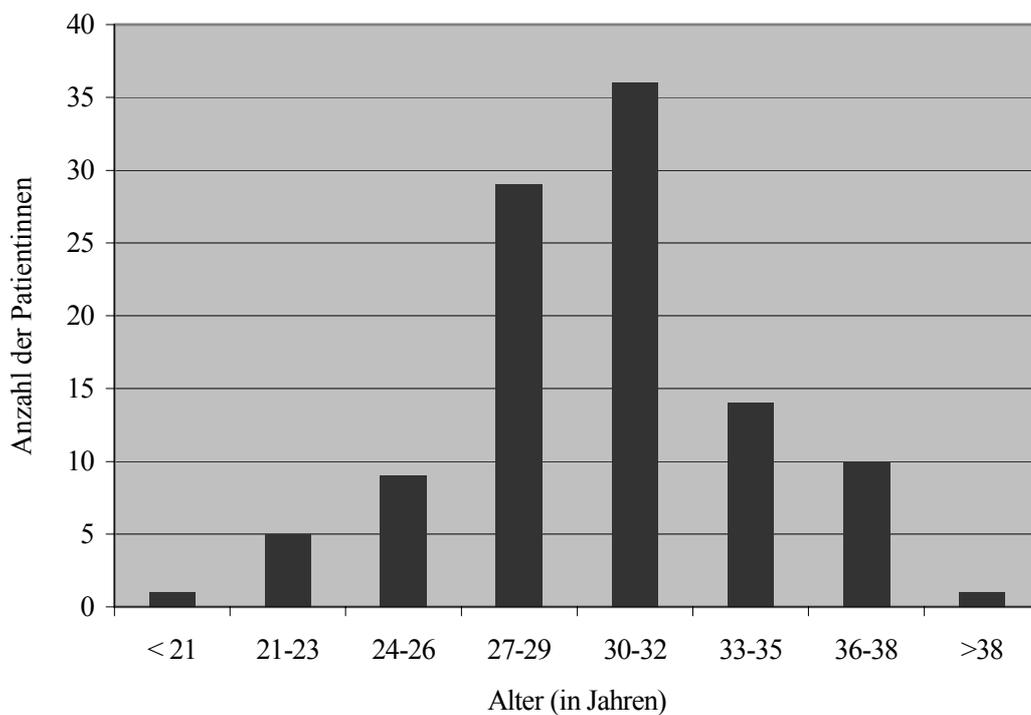


Abb.3 Altersverteilung der Patientinnen bei Ersterkrankung

Als nächstes wurde die Anzahl an Schwangerschaften mit hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen erhoben. In 93 Fällen (88,6 %) war nur eine Schwangerschaft in dieser Hinsicht pathologisch verlaufen, bei elf Patientinnen zwei Schwangerschaften (10,5 %) und in einem Fall drei Schwangerschaften. Abb.4 veranschaulicht diese Häufigkeitsverteilung.

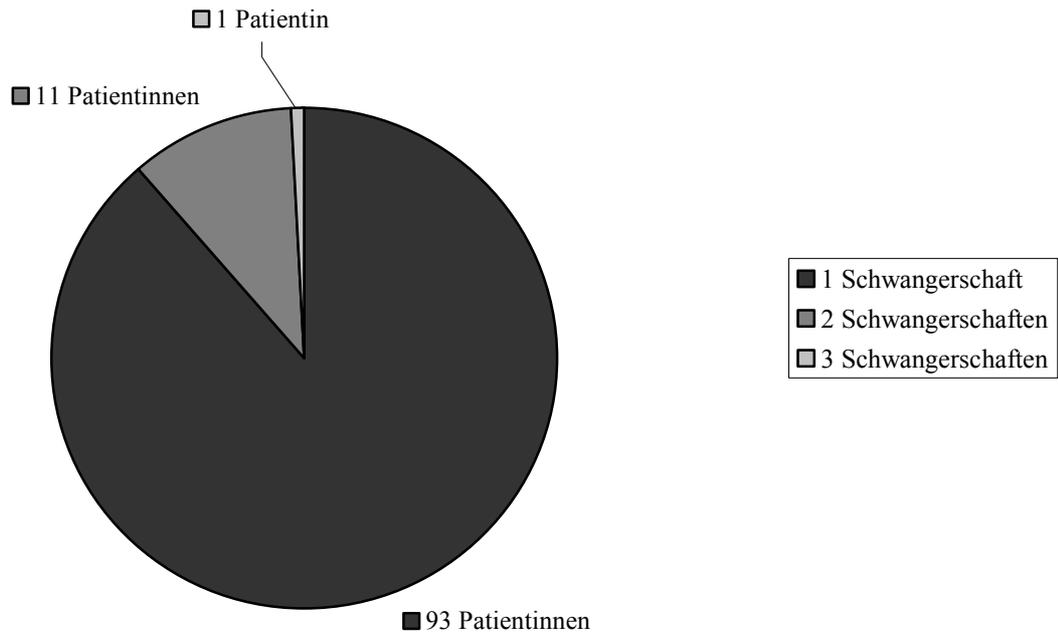


Abb.4 Anzahl der Schwangerschaften mit hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen

Somit ergibt sich eine Anzahl von 118 erfassten pathologisch verlaufenen Schwangerschaften. Die Untersuchung der Frage, welche Schwangerschaft jeweils pathologisch verlaufen war, ergibt das in Abb.5 dargestellte Bild.

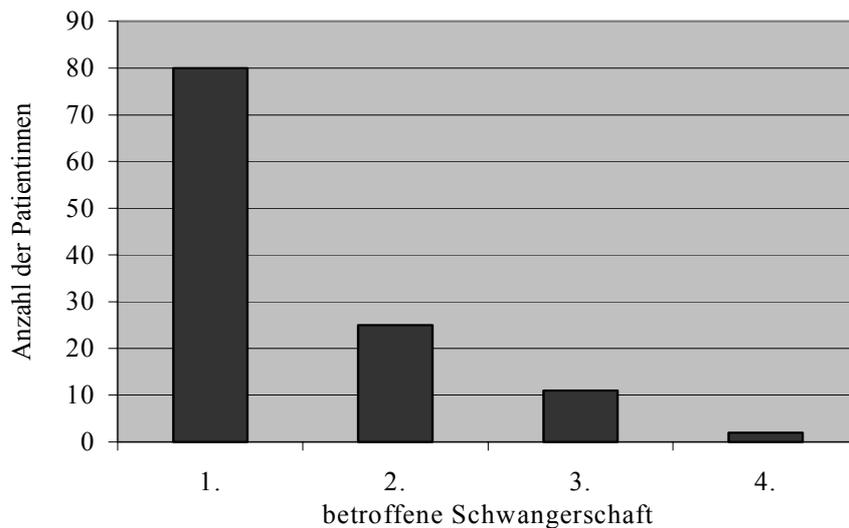


Abb.5 Von hypertensiven Komplikationen betroffene Schwangerschaft

Für die Patientinnen, bei denen in mehreren Schwangerschaften hypertensive Komplikationen aufgetreten waren, wurden hier Mehrfachnennungen berücksichtigt.

In 80 Fällen (67,8 %) war die erste Schwangerschaft betroffen, 25 mal (21,2 %) verlief die zweite und 11 mal (9,3 %) die dritte Schwangerschaft pathologisch. Bei zwei Frauen war es die vierte Schwangerschaft, die hypertensive Komplikationen aufwies.

14 der 105 Frauen (13,3 %) berichteten anamnestisch über mindestens einen Abort in der Vergangenheit. Bei den übrigen 91 Patientinnen (86,7 %) waren keine Aborte bekannt.

Für die weitere Datenerhebung wurde in den Fällen, in denen mehrere Schwangerschaften mit hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen aufgetreten sind, jeweils die letzte pathologisch verlaufene Schwangerschaft berücksichtigt.

Von Interesse war hier zuerst, ob die Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits symptomatisch waren oder nur im Rahmen der Vorsorgeuntersuchung durch erhöhten Blutdruck oder Proteinurie aufgefallen sind. 52 Patientinnen (49,5 %) zeigten bei Diagnosestellung bereits subjektive Beschwerden. Berücksichtigt wurden hierbei epigastrische Schmerzen, Ödeme, Kopfschmerzen, Augenflimmern, Ohrensausen und Krampfanfälle. In 53 Fällen (50,5 %) waren die Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung asymptomatisch.

Die Untersuchung des Geschlechtes der Neugeborenen ergab in 60 Fällen weibliche Nachkommen (57,1 %). Zu 42,9 % handelte es sich bei den Kindern um Jungen (45 Fälle).

Darüber hinaus wurde auch der Geburtsmodus erfasst. 83 der 105 Schwangerschaften (79,0 %) wurden durch Sectio caesarea beendet, während nur in 21,0 % der Fälle (22 Schwangerschaften) eine vaginale Entbindung möglich war.

Schließlich interessierte der Zeitpunkt der Entbindung im Schwangerschaftsverlauf. Im Durchschnitt wurden die Frauen mit einem Gestationsalter von 35,3 Wochen entbunden. Im Median waren es 36 Wochen. Die früheste Entbindung fand in der 22. Schwangerschaftswoche, die späteste in der 42. Schwangerschaftswoche statt. Abb.6 zeigt die genaue Verteilung des Entbindungszeitpunktes.

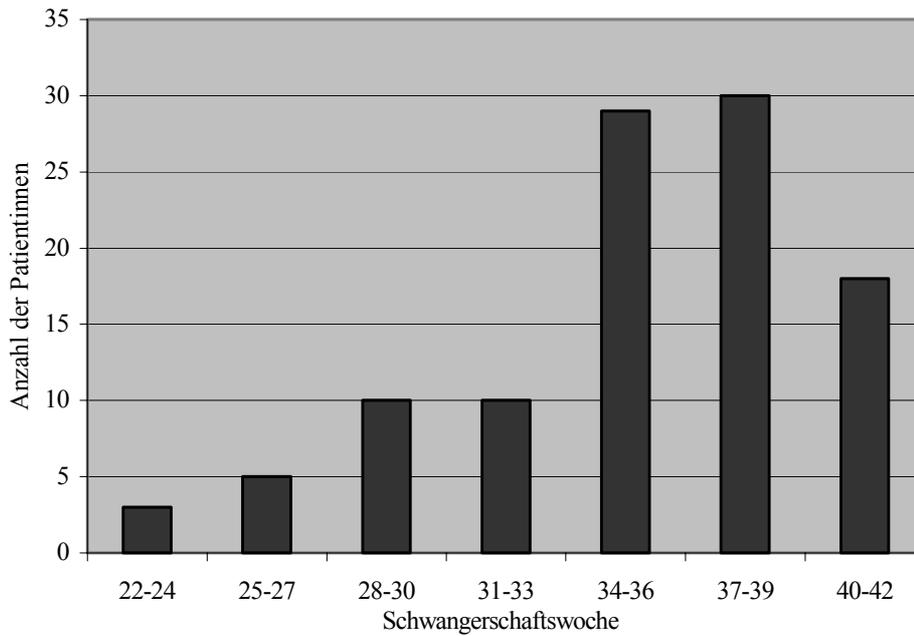


Abb.6 Zeitpunkt der Entbindung

Zuletzt wurden die rekrutierten Fälle anhand der gesammelten Befunde den entsprechenden Krankheitsbildern zugeordnet. Hierbei ergaben sich eine Häufigkeit von 29,5 % an Fällen mit schwerer Präeklampsie (31 Fälle), fünf Fälle einer Eklampsie (4,8 %) und 69 Patientinnen mit HELLP-Syndrom (65,7 %). Dies ist in Abb.7 grafisch dargestellt.

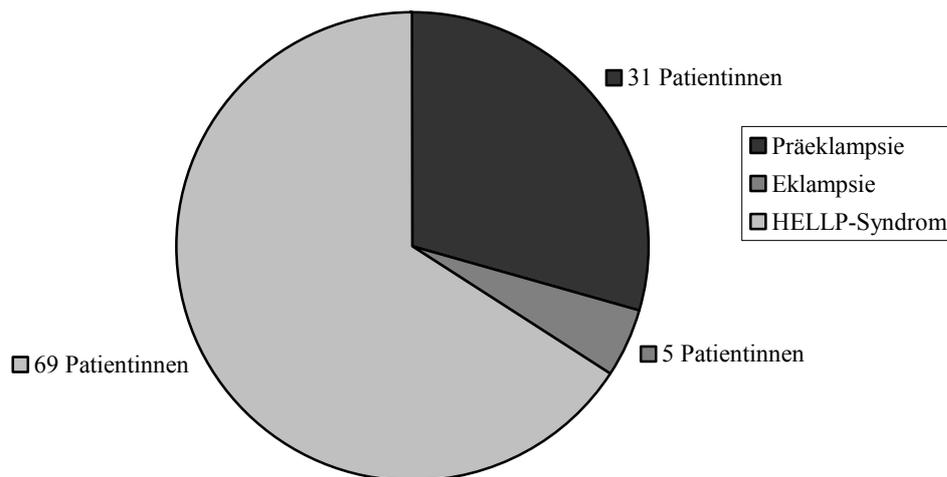


Abb.7 Art der hypertensiven Schwangerschaftskomplikation bei Ersterkrankung

3.2 Genetische Untersuchungen

Die genetischen Untersuchungen für das unter Abschnitt 3.1. näher umschriebene Patientenkollektiv zeigten folgende Ergebnisse:

3.2.1 Faktor-V-Leiden Mutation

Für die Faktor-V-Leiden Mutation waren sieben der 105 Patientinnen heterozygot (6,7 %). 98 Patientinnen (93,3 %) wiesen den Wildtyp auf. Homozygote Mutationen wurden nicht gefunden (Vergleiche hierzu Abb.8).

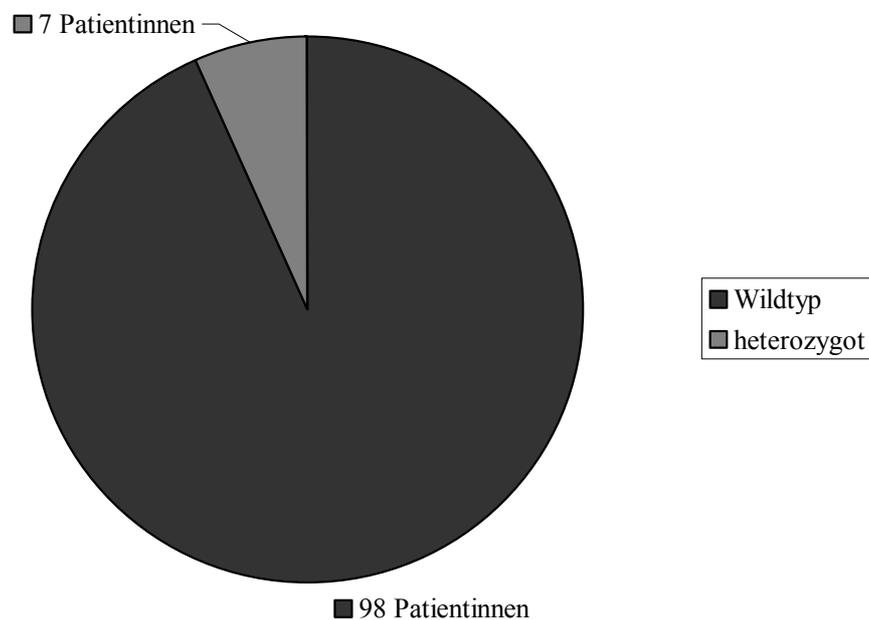


Abb.8 Genetische Analyse für die Faktor-V-Leiden Mutation

3.2.1.1 Statistische Auswertung

Vergleicht man diese Häufigkeiten mit der in der Literatur angegebenen Referenzwahrscheinlichkeit von durchschnittlich sieben Prozent für die Faktor-V-Leiden Mutation in der Allgemeinbevölkerung (Rees et al, 1995), so ergibt der Chi-Quadrat-Anpassungstest mit einer Prüfgröße $\nu=0,018$ und einem kritischen Wert $\chi^2_{1,0,95}=3,84$ auf dem 5 % Niveau keinen signifikanten Unterschied zwischen dem untersuchten Patientenkollektiv und einer Referenzpopulation ($p>0,05$).

3.2.2 Prothrombin-G20210A Mutation

Bezüglich der Prothrombin-G20210A Mutation waren vier Patientinnen heterozygot (3,8 %). Bei einer Patientin fand sich eine homozygote Mutation, 100 Patientinnen entsprechen dem Wildtyp (95,2 %). Somit betrug die Gesamthäufigkeit der Prothrombin-G20210A Mutation in diesem Kollektiv 4,8 %. Abb.9 stellt dies grafisch dar.

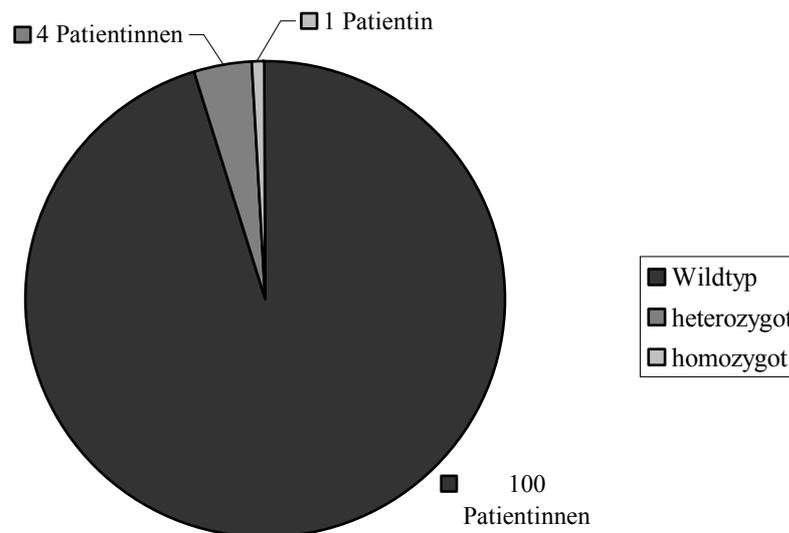


Abb.9 Genetische Analyse für die Prothrombin-G20210A Mutation

3.2.2.1 Statistische Auswertung

Für eine Referenzwahrscheinlichkeit von durchschnittlich vier Prozent für die Prothrombin-G20210A Mutation in der Allgemeinbevölkerung (Cumming et al, 1997) ergibt der Chi-Quadrat-Anpassungstest hier mit einer Prüfgröße $v=0,155$ bei einem kritischen Wert $\chi^2_{1,0,95}=3,84$ auf dem 5 % Niveau wiederum keinen signifikanten Unterschied zwischen dem untersuchten Patientenkollektiv und einer Referenzpopulation ($p>0,05$).

3.2.3 MTHFR-C677T Mutation

Für die MTHFR-C677T Mutation fanden sich 49 heterozygote (46,7 %) und 14 homozygote (13,3 %) Patientinnen. In 42 Fällen (40,0 %) ergab die genetische Analyse das Vorliegen des Wildtyps. Somit ergab sich eine Gesamthäufigkeit der MTHFR-C677T Mutation von 60,0 % (siehe hierzu Abb.10).

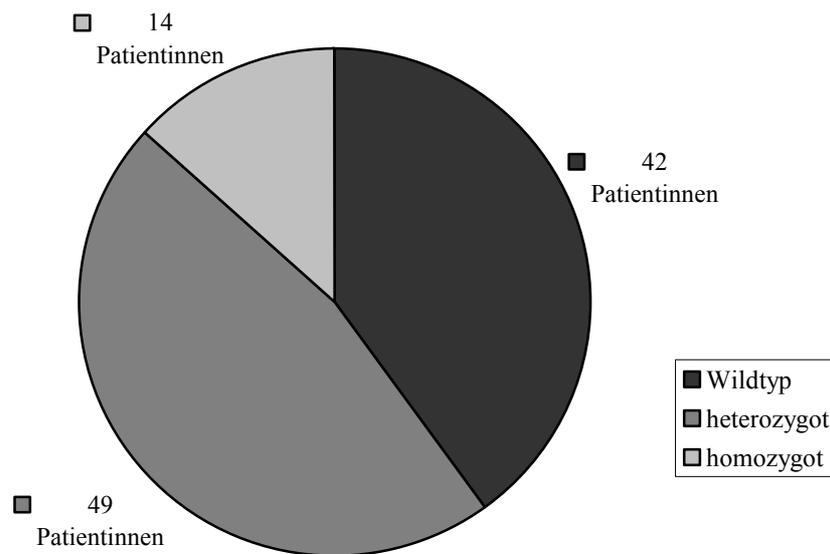


Abb.10 Genetische Analyse für die MTHFR-C677T Mutation

3.2.3.1 Statistische Auswertung

Nach aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen wird nur die homozygote Form der MTHFR-C677T Mutation in Zusammenhang mit hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen gebracht (Linfert und Tsongalis, 2001). Stellt man hier einen statistischen Vergleich mit der in der Literatur angegebenen durchschnittlichen Referenzwahrscheinlichkeit der homozygoten Mutation von elf Prozent (Wilcken, 1997; Lockwood, 2001) an, so ergibt der Chi-Quadrat-Anpassungstest mit einer Prüfgröße $v=0,584$ bei einem kritischen Wert $\chi^2_{1,0.95}=3,84$ auf dem 5 % Niveau ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen dem untersuchten Patientenkollektiv und der Referenzpopulation ($p>0,05$).

3.3 Zusammenfassung

Zusammenfassend wird festgehalten, dass für die drei untersuchten genetisch bedingten Gerinnungsstörungen, der Faktor-V-Leiden, der Prothrombin-G20210A und der MTHFR-C677T Mutation bezüglich deren Häufigkeit kein signifikanter Unterschied im Vergleich des untersuchten Patientenkollektivs mit der Allgemeinbevölkerung festgestellt werden kann. Abb.11 fasst die Ergebnisse der genetischen Analysen nochmals grafisch zusammen.

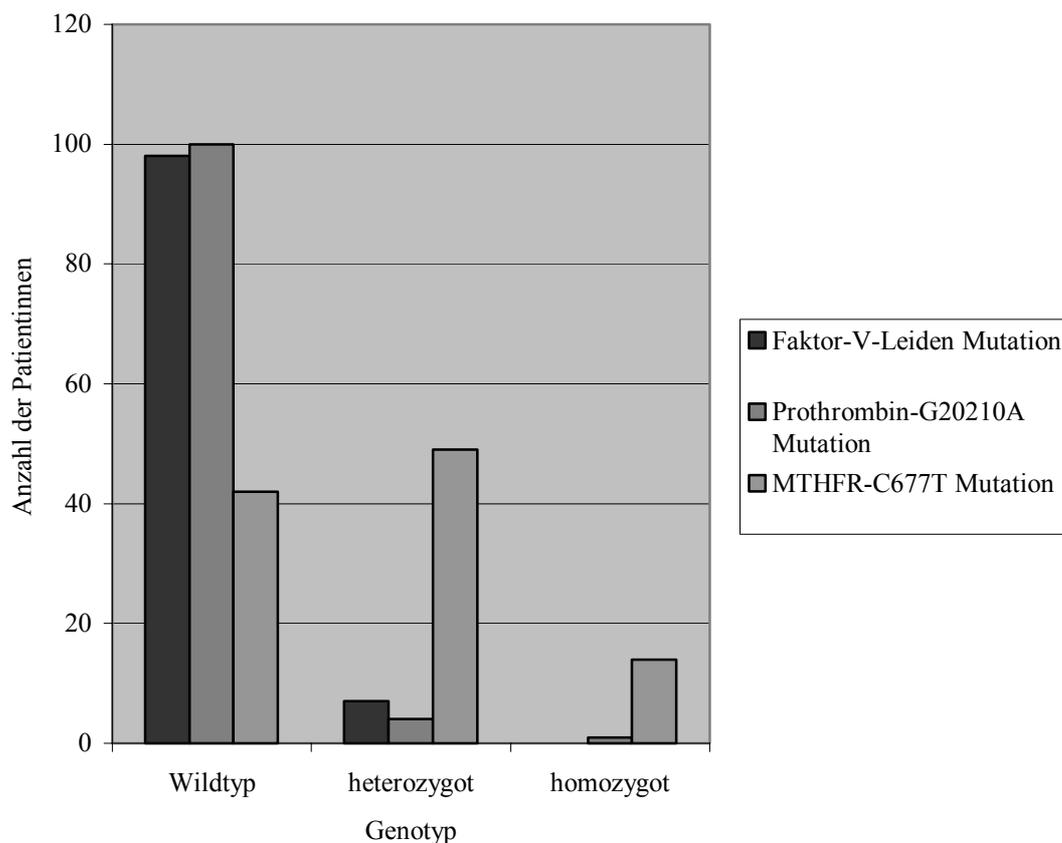


Abb.11 Zusammenfassung der Ergebnisse der genetischen Analysen

Abschließend soll das Teilkollektiv der insgesamt 23 Patientinnen dieser Untersuchung, bei denen sich mindestens eine der drei untersuchten Mutationen, im Falle der MTHFR-C677T Mutation die homozygote Form, findet, im Hinblick auf die unter Punkt 3.1 untersuchten epidemiologischen Fakten nochmals näher betrachtet werden.

Diese Gruppe wies zum Zeitpunkt der Ersterkrankung ein mittleres Alter von 29,3 Jahren (Median 30 Jahre) auf. Im Gesamtkollektiv waren es im Mittel 29,9 Jahre (Median 30 Jahre). Bei 21 Patientinnen (91,3 % gegenüber 78,1 % im Gesamtkollektiv) bestand eine

Schwangerschaft mit hypertensiven Komplikationen, jeweils eine Patientin hatte zwei beziehungsweise drei pathologisch verlaufene Schwangerschaften. 14 der 23 Patientinnen waren bei Diagnosenstellung klinisch auffällig (60,9 % versus 49,5 % im Gesamtkollektiv), 87,0 % (gegenüber 79,0 % in der ganzen Gruppe) wurden durch Sectio caesarea entbunden und zwölf der Neugeborenen (52,2 %, verglichen mit 57,1 %) waren weiblich. Gegenüber 13,3 % in der Gesamtgruppe fanden sich im Teilkollektiv 13,1 % mit mindestens einem Abort in der Anamnese. Vergleicht man zuletzt die Häufigkeiten der einzelnen Krankheitsbilder mit denen des Gesamtkollektives, so fanden sich sechs Fälle von Präeklampsie (26,1 % gegenüber 29,5 %), ein Fall von Eklampsie (4,3 % versus 4,8 % im Gesamtkollektiv) und 16 Fälle mit HELLP-Syndrom (70,0 % versus 65,7 % im Gesamtkollektiv). Eine Testung auf Abhängigkeit bzw. Unabhängigkeit (Chi-Quadrat-Test) wurde hier aufgrund der geringen Fallzahlen im Teilkollektiv mit genetischen Veränderungen nicht durchgeführt.

4 Kasuistiken

Im folgenden soll zur Veranschaulichung der dargestellten Ergebnisse aus Datenerhebung und genetischer Analyse die Krankengeschichte von zwei Patientinnen exemplarisch geschildert werden. Die Beispiele zeigen typische Verläufe, wie sie sich im Rahmen der vorliegenden Untersuchung immer wieder ergeben haben.

4.1 HELLP-Syndrom bei homozygoter Prothrombin-G20210A Mutation

Im Frühjahr 2000 wurde eine 31 Jahre alte Frau in ihrer ersten Schwangerschaft mit einem Gestationsalter von 24 Wochen und zwei Tagen mit Übelkeit und Erbrechen vom Facharzt in die Notaufnahme der Frauenklinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München eingeliefert. Nach eingehender Untersuchung fand sich ein Blutdruck von 160/100 mmHg, ein wachstumsretardierter Fetus und ein erhöhter Widerstand in der Doppler-Sonographie der uteroplazentaren Gefäße. Es wurde die Diagnose einer schwangerschaftsinduzierten Hypertonie gestellt. Innerhalb eines Tages entwickelte die Patientin das Vollbild eines HELLP-Syndroms: erhöhte Leberenzyme, Proteinurie, Thrombozytopenie, Schmerzen im rechten Oberbauch, Erbrechen, Oligurie sowie weiterhin erhöhten Blutdruck. Unter intensivmedizinischer Überwachung wurde elf Tage lang versucht, eine vorzeitige Entbindung zu verhindern. Eine weitere Verschlechterung des dopplersonographischen Befundes mit eingeschränkter cerebraler Perfusion des Fetus führte schließlich zur primären Sectio caesarea aus fetaler Indikation. Die Mutter konnte eine Woche später in gutem Allgemeinzustand, allerdings mit weiterhin erhöhtem Blutdruck entlassen werden. Das nur 570 g schwere Kind, entsprechend einem Wert unterhalb der zehnten Perzentile, wurde mehrere Monate auf der Intensivstation betreut, bevor schließlich eine Entlassung in neurologisch und internistisch stabilem Zustand möglich war.

Im Rahmen der genetischen Untersuchung fand sich bei dieser Patientin als einzige der gesamten Untersuchung eine homozygote Prothrombin-G20210A Mutation. Bezüglich der MTHFR-C677T Mutation war die Patientin heterozygot und die Untersuchung des Genlocus für die Faktor-V-Leiden Mutation erbrachte das Vorliegen des Wildtyps.

4.2 HELLP-Syndrom ohne nachweisbare Mutationen im Bereich der plasmatischen Gerinnung

Im Februar des Jahres 1997 wurde eine 27-jährige Erstgebärende in der 35. Schwangerschaftswoche mit plötzlich beginnenden rechtsseitigen Oberbauchschmerzen unter Wehentätigkeit aus einem Kreiskrankenhaus der Umgebung in die Notaufnahme der Frauenklinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München eingeliefert. Es zeigten sich erniedrigte Thrombozytenzahlen, im Verlauf stark fallend, und erhöhte Transaminasen. Reflexe und Blutdruck blieben im Normbereich, es fand sich keine Proteinurie. Aufgrund der Intensität der epigastrischen Beschwerden wurde die Indikation zur sekundären Sectio caesarea bei HELLP-Syndrom gestellt. Postpartal bildeten sich sämtliche klinischen Symptome der Patientin zurück, alle Laborparameter lagen nach nur wenigen Tagen wieder im Normbereich. Das unreife Neugeborene mit einem im mittleren Normbereich liegenden Geburtsgewicht von 2150 g, musste für drei Tage intensivmedizinisch betreut werden. Mutter und Kind konnten jedoch bereits nach kurzem stationären Aufenthalt nach Hause entlassen werden.

Die genetische Untersuchung dieser Patientin ergab im Hinblick auf alle drei untersuchten Mutationen keine pathologischen Ergebnisse. Es fand sich für alle drei Genloci der Wildtyp.

5 Diskussion

In den letzten Jahren wurden wissenschaftliche Arbeiten zum Themenkomplex „schwangerschaftsinduzierte Hypertonie“, den damit verbundenen Komplikationen und deren Ursachen in grosser Zahl veröffentlicht. Die Untersuchung genetischer Faktoren, allen voran der Faktor-V-Leiden Mutation, schien zunächst den Durchbruch in der Ursachenforschung dieser oft so dramatisch verlaufenden Erkrankungen zu bedeuten (Bertina et al, 1994; Svensson et al, 1994). In der Folgezeit lieferten jedoch weitere Studien völlig unterschiedliche Ergebnisse, die zu ebenso kontroversen Empfehlungen führten. Daneben waren Nomenklatur und Grenzwerte schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen in den vergangenen Jahren einem starken Wandel unterworfen (Chappell et al, 1999; Redman et al, 1972). Dies erschwerte die Bewertung und den Vergleich verschiedener Arbeiten zu diesem Themengebiet. Erst allmählich setzten sich einheitliche Kriterien zur Abgrenzung und Klassifikation der einzelnen Krankheitsbilder durch (ACOG technical bulletin, 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurden die drei im Zusammenhang mit schwangerschaftsinduzierter Hypertonie und deren Komplikationen am häufigsten beschriebenen Mutationen, die Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen, in einem Kollektiv von 105 nach aktueller Definition an schwerer Präeklampsie, Eklampsie oder HELLP-Syndrom erkrankten Frauen nochmals getestet. Im Folgenden sollen die Ergebnisse diskutiert und mit denen ähnlicher Studien der vergangenen Jahre verglichen werden. In diesem Zusammenhang wird versucht, mögliche Gründe für die unterschiedlichen Resultate der verschiedenen Untersuchungen zu erörtern und Perspektiven für zukünftige Forschung in diesem Bereich zu entwickeln.

5.1 Literatur zum Thema

Eine größere Anzahl von Arbeiten untersucht Zusammenhänge zwischen Störungen des Gerinnungssystems und dem Auftreten von schwangerschaftsassozierten hypertensiven Erkrankungen. Vielfach sind jedoch die Angaben zum Patientenkollektiv bezüglich Klassifikation der Erkrankung, Vorgeschichte und Risikofaktoren sowie die Einschlusskriterien der Studien ungenau aufgeschlüsselt oder überhaupt nicht definiert. Die unterschiedlich verwendeten Klassifikationen schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen

erschweren darüber hinaus die Beurteilung der vorhandenen Arbeiten zu diesem Themenkomplex.

Wie bereits im Abschnitt 1.1 erörtert, wird seit 1996 von den führenden Fachgesellschaften die im International Journal of Gynaecology and Obstetrics erschienene Definition für Hypertension in der Schwangerschaft anerkannt (ACOG technical bulletin, 1996). Studien, die nach diesem Zeitraum veröffentlicht werden, legen ihren Auswertungen in der Regel diese Definition zu Grunde und sind so leichter miteinander vergleichbar. Somit erscheint es sinnvoll, die Literatursuche auf den Zeitraum ab 1996 zu begrenzen.

Neben den Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen werden in einigen Arbeiten noch weitere Genloci und Laborparameter untersucht. Um der Übersichtlichkeit willen wird im Rahmen der vorliegenden Arbeit auf eine vollständige Wiedergabe der zugehörigen Ergebnisse jedoch verzichtet.

Dizon-Townson et al veröffentlichen 1996 eine Studie, in der 158 Frauen mit schwerer Präeklampsie sowie 403 Frauen ohne schwangerschaftsinduzierte Hypertonie auf das Vorliegen einer Faktor-V-Leiden Mutation untersucht werden. Es ergibt sich ein signifikanter Unterschied bezüglich des Vorhandenseins einer heterozygoten Mutation im Faktor-V-Leiden Gen zwischen Frauen mit Präeklampsie (8,9 Prozent) und denen der Kontrollgruppe (4,2 Prozent) ($p=0,03$). Homozygot für die Faktor-V-Leiden Mutation ist keine der untersuchten Frauen dieser Studie.

Ebenfalls 1997 stellen Lindoff et al im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie über 50 Frauen mit Präeklampsie vor. Untersucht werden das Vorliegen einer Faktor-V-Leiden Mutation, ein Mangel an Protein C und Protein S sowie die Antithrombin III-Konzentration. Veränderungen im Faktor-V-Leiden Gen können bei elf der Patientinnen mit Präeklampsie nachgewiesen werden, in zwei Fällen in homozygoter Form. In der Kontrollgruppe stehen dem fünf Patientinnen mit heterozygoten Veränderungen auf dem Faktor-V-Leiden Gen gegenüber. Der Unterschied erweist sich als signifikant ($p=0,04$).

Auch unter den 96 Frauen mit Präeklampsie, die von Grandone et al 1997 untersucht werden, findet sich eine signifikant erhöhte Anzahl von Trägerinnen der Faktor-V-Leiden Mutation (10,5 Prozent, davon eine homozygot) gegenüber der Kontrollgruppe (2,3 Prozent) ($p=0,02$). Homozygotie für MTHFR-C677T findet sich bei 28 der erkrankten

Patientinnen (29,8 Prozent), verglichen mit 24 (18,6 Prozent) bei den nicht Erkrankten ($p=0,05$).

Zwei Jahre später veröffentlichten Grandone et al eine weitere Fall-Kontroll Studie, in der 140 Frauen mit schwangerschaftsinduzierter Hypertonie und 216 Frauen mit unauffälliger Schwangerschaft auf eine Faktor-V-Leiden, eine Prothrombin-G20210A und eine MTHFR-C677T Mutation untersucht werden. In dieser Studie kann bei allen drei Mutationen eine signifikante Häufung festgestellt werden. Bei 16 der 140 Frauen (11,4 Prozent) der Studiengruppe und neun der 216 Frauen (4,2 Prozent) in der Kontrollgruppe kann eine Prothrombin-G20210A Mutation nachgewiesen werden ($p=0,29$). Elf (7,9 Prozent) versus vier (1,9 Prozent) Frauen der Kontrollgruppe haben eine Faktor-V-Leiden Mutation ($p=0,33$). Eine MTHFR-C677T Mutation wird bei 34 (24,5 Prozent) der erkrankten Frauen und bei 36 (16,7 Prozent) der gesunden Frauen gefunden ($p=0,26$).

Kupferminc et al finden 1999 bei 22 von 110 Frauen (20 Prozent), bei denen anamnestisch entweder eine Präeklampsie, eine vorzeitige Plazentalösung, eine fetale Wachstumsretardierung oder eine Totgeburt festgestellt wurden, eine Faktor-V-Leiden Mutation. Bei elf der Frauen (zehn Prozent) liegt eine Prothrombin-G20210A Mutation vor. In der Kontrollgruppe kann bei sechs Prozent der Frauen eine heterozygote Faktor-V-Leiden Mutation und bei drei Prozent eine Prothrombin-G20210A Mutation nachgewiesen werden. 24 (22 Prozent) der Frauen haben eine homozygote MTHFR-C677T Mutation verglichen mit neun (acht Prozent) in der Vergleichsgruppe. Alle drei Unterschiede erweisen sich als signifikant ($p<0,001$).

Im folgenden Jahr erscheint eine weitere Fall-Kontroll-Studie von Kupferminc et al, die 63 an einer Präeklampsie erkrankte Frauen auf eine Faktor-V-Leiden, eine Prothrombin-G20210A und eine MTHFR-C677T Mutation untersuchen. Es findet sich eine Mutation im Faktor-V-Leiden Gen mit einer Häufigkeit von 24 Prozent in der Fall- und 6,3 Prozent in der Kontrollgruppe ($p<0,001$). Eine Prothrombin-G20210A Mutation kann bei acht Prozent der Frauen aus der Fall- und bei drei Prozent aus der Kontrollgruppe nachgewiesen werden ($p=0,14$). Eine homozygote MTHFR-C677T Mutation wird bei 24 Prozent der erkrankten und bei 10 Prozent der gesunden Frauen gefunden ($p=0,008$) (Kupferminc et al, 2000).

Aus dem gleichen Jahr stammt auch die Arbeit von Rigo et al. Diese überprüft 120 Frauen mit schwerer Präeklampsie und 101 Frauen einer Kontrollgruppe auf eine Faktor-V-Leiden Mutation und eine MTHFR-C677T Mutation. 18,3 Prozent der ersten Gruppe tragen eine heterozygote Faktor-V-Leiden Mutation, in der Kontrollgruppe dagegen nur drei Prozent. Der Unterschied erweist sich als signifikant ($p < 0,001$). Als nicht signifikant stellt sich die Anzahl an homozygoten MTHFR-C677T Mutationen heraus (6,67 Prozent versus 5,94 Prozent, Odds ratio 1,13).

163 Frauen mit Präeklampsie und 163 Frauen ohne Erkrankungen in der Schwangerschaft werden 1999 von de Groot et al untersucht. Das Ergebnis der genetischen Analyse ergibt hier in der Fall- und in der Kontrollgruppe beinahe gleiche Ergebnisse. Eine Faktor-V-Leiden Mutation kann bei 9,8 Prozent der Frauen mit Präeklampsie und bei 9,2 Prozent der Frauen der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Odds ratio 1,07). Eine Prothrombin-G20210A Mutation haben 3,1 Prozent der Fall- und 3,7 Prozent der Kontrollgruppe (Odds ratio 0,83).

O'Shaughnessy et al untersuchen 1999 283 Frauen mit Präeklampsie auf eine Faktor-V-Leiden und eine MTHFR-C677T Mutation. Gegenüber der Kontrollgruppe von 100 hinsichtlich des Blutdrucks unauffälligen Gebärenden und 100 Personen aus der Bevölkerung findet sich kein signifikanter Unterschied im Vorkommen einer Faktor-V-Leiden Mutation (5,3 Prozent versus 5,5 Prozent; Odds Ratio 0,96). Ebenfalls als nicht signifikant erweist sich der Unterschied im Vorkommen einer homozygoten MTHFR-C677T Mutation mit 11,0 Prozent in der Fall- und 11,5 Prozent in der Kontrollgruppe (Odds ratio 1,05).

Auch Kim et al publizieren 2000 eine Studie, in der 193 Frauen mit schwerer Präeklampsie und 360 Frauen mit unauffälligen Schwangerschaften auf eine MTHFR-C677T Mutation getestet werden. Diese ist sowohl in der Fall- als auch in der Kontrollgruppe mit einer Häufigkeit von 11,4 Prozent homozygot nachzuweisen ($p = 0,95$). Weiter werden 169 erkrankte Frauen und 253 Frauen der Kontrollgruppe auf eine Faktor-V-Leiden Mutation untersucht. Es finden sich 6,5 Prozent Mutationen in der Fall- und 4,7 Prozent in der Kontrollgruppe ($p = 0,43$). Beide Unterschiede erweisen sich als nicht signifikant.

Tempelhoff et al veröffentlichen ebenfalls 2000 eine Untersuchung, in der 61 Patientinnen mit schwerer Präeklampsie oder HELLP-Syndrom und 61 Patientinnen als Kontrollgruppe auf eine Faktor-V-Leiden Mutation getestet werden. Bei 20,0 Prozent der Fall- und 5,0 Prozent der Kontrollgruppe kann die Mutation nachgewiesen werden ($p=0,03$).

2001 stellen Livingston et al eine Fall-Kontroll-Studie mit 110 an Präeklampsie erkrankten und 97 gesunden Frauen vor, die auf eine Faktor-V-Leiden, eine Prothrombin-G20210A und eine MTHFR-C677T Mutation untersucht werden. Bei 4,4 Prozent der Frauen der Fall- und 4,3 Prozent der Kontrollgruppe findet sich eine Faktor-V-Leiden Mutation ($p=0,96$). Eine Prothrombin-G20210A Mutation findet sich zu 1,1 Prozent in der Kontroll-, nicht aber in der Fallgruppe ($p=0,92$). Als ebenfalls nicht signifikant stellt sich der Unterschied bezüglich der MTHFR-C677T Mutation dar (9,6 Prozent in der Fall- und 6,3 Prozent in der Kontrollgruppe) ($p=0,54$).

Schließlich untersuchen Morrison et al 2002 394 Frauen mit Präeklampsie auf eine Faktor-V-Leiden Mutation und vergleichen diese mit 163 Frauen einer Kontrollgruppe. Bei 4,3 Prozent der Patientinnen der Fall- und 4,9 Prozent der Kontrollgruppe lässt sich eine Mutation nachweisen (Odds ratio 0,87). 400 Frauen mit Präeklampsie und 164 Frauen in der Kontrollgruppe werden auf eine Veränderung im Prothrombin-Gen untersucht, wobei keine Mutationen in der Fallgruppe und ein Prozent Prothrombin-G20210A Mutationen in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Kein Unterschied lässt sich in der Häufigkeit einer MTHFR-C677T Mutation finden, die sich sowohl in der Fallgruppe von 404 Frauen, als auch in der Kontrollgruppe mit 164 Frauen je zu 10,4 Prozent nachweisen lässt (Odds ratio 1,01).

Tabelle 1 stellt die Ergebnisse der hier aufgeführten Studien nochmals zusammen.

Tabelle 1: Zusammenfassung aktueller Untersuchungen zur Häufigkeit von Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen bei hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen

Autoren	Jahr	Fallzahl	Faktor-V-Leiden	Prothrombin-G20210A	MTHFR-C677T
Dizon-Townson et al	1996	158	8,9%	-	-
Grandone et al	1999	136	7,9%	-	24,5%
Grandone et al	1999	140	-	11,4%	-
Grandone et al	1997	96	10,5%	-	29,8%
Groot et al	1999	163	9,8%	3,1%	-
Kim et al	2000	169	6,5%	-	-
Kim et al	2000	193	-	-	11,4%
Kupferminc et al	1999	110	20,0%	10,0%	22,0%
Kupferminc et al	2000	63	24,0%	8,0%	24,0%
Lindoff et al	2000	50	22,0%	-	-
Livingston et al	2001	110	4,4%	0%	9,6%
Morrison et al	2002	394	4,3%	-	-
Morrison et al	2002	400	-	1,0%	-
Morrison et al	2002	404	-	-	10,4%
O'Shaughnessy et al	2002	283	5,3%	-	11,0%
Rigo et al	2000	120	18,3%	-	6,7%
Tempelhoff et al	2000	61	20,0%	-	-

5.2 Methode

5.2.1 Auswahl der Methode

Der Studienaufbau im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ergibt sich weitgehend aus der Fragestellung und dem Design vergleichbarer Arbeiten der vergangenen Jahre. Einzig die Frage nach der Notwendigkeit einer Kontrollgruppe erweist sich als strittig. Viele Untersuchungen der letzten Jahre zu diesem Themenkomplex arbeiten mit einer Kontrollgruppe „gesunder“ Frauen, die im Allgemeinen aus dem Patientengut der eigenen Klinik

rekrutiert wird (Dizon-Townson et al, 1996; Lindoff et al, 1997). Andere Arbeiten verzichten auf die Untersuchung eines Vergleichskollektivs und stellen ihre erhobenen Daten der Häufigkeit der Mutationen in der Allgemeinbevölkerung gegenüber (O'Shaughnessy et al, 1999). Betrachtet man die unterschiedlichen Ergebnisse für die drei in dieser Arbeit untersuchten Mutationen in den Kontrollgruppen früherer Untersuchungen, so finden sich beispielsweise bei der Faktor-V-Leiden Mutation in den Kontrollgruppen Häufigkeiten von 1,86 Prozent (Grandone et al, 1999) bis 9,2 Prozent (de Groot et al, 1999). Homozygotie für die MTHFR-C677T Mutation kommt in Kontrollgruppen zwischen 9,0 Prozent bei Kupferminc et al (1999) und 18,6 Prozent bei Grandone et al (1997) vor. Eine Prothrombin-G20210A Mutation wird in den Kontrollgruppen zwischen null Prozent (Livingston et al, 2001) und 4,2 Prozent (Grandone et al, 1999) gefunden. Aus diesem Grunde erscheint es gerechtfertigt, auf die genetische Analyse in einem Vergleichskollektiv zu verzichten und statt dessen die Häufigkeit der untersuchten Mutationen in der Allgemeinbevölkerung den statistischen Vergleichen zugrunde zu legen. Auf die Problematik der Untersuchung mittels Fall-Kontroll-Studien soll im Rahmen eines Vergleichs früherer Arbeiten in Abschnitt 5.4. nochmals näher eingegangen werden.

Zur Datenerhebung und Materialgewinnung wurde in der vorliegenden Studie ein aufwendiges Vorgehen gewählt. Um innerhalb eines überschaubaren Zeitraumes eine ausreichende Zahl an Patientinnen rekrutieren zu können, wurden neben den aktuellen Fällen der Frauenklinik auch frühere Patientinnen der Klinik erneut einbestellt oder zu Hause besucht. Schließlich gelang es, das Studienkollektiv durch Mitglieder der Selbsthilfegruppe Gestose-Frauen e.V. – 47661 Issum zu erweitern, deren Krankheitsgeschichte ebenfalls im persönlichen Kontakt erhoben wurde. Anamneseerhebung, Studienaufklärung und Blutentnahmen für das gesamte Patientinnenkollektiv führte dabei weitgehend eine Person durch. Der Aufwand dieses gewählten Vorgehens erwies sich im Verlauf der Untersuchung als sinnvoll. Datenerhebung und genetische Analysen innerhalb eines kurzen Zeitraumes helfen, Fehler durch veränderte Untersuchungsbedingungen zu vermeiden. Auch Datenerhebung und Materialgewinnung von einer Person dienen diesem Zweck. Zuletzt erwies sich der persönliche Kontakt zu den Patientinnen, aber auch zu den betreuenden Fachärzten und Kliniken als sinnvoll, da offene Fragen im direkten Kontakt geklärt werden konnten. Dies half insbesondere bei der korrekten Zuordnung zu den entsprechenden Krankheitsbildern.

5.2.2 Einschlusskriterien der Studie

Die Einschlusskriterien der vorliegenden Arbeit wurden eng gewählt. Die Untersuchung wurde dabei auf nur drei Erkrankungen begrenzt und mit der Auswahl schwerer Präeklampsie, Eklampsie und HELLP-Syndrom konnte gewährleistet werden, dass nur Patientinnen mit gravierenden Krankheitsbildern in die Studie aufgenommen wurden.

Weiter wurde großer Wert darauf gelegt, nur die aktuell gültigen Definitionen der entsprechenden Erkrankungen (ACOG technical bulletin, 1996) bei der Auswahl der Patientinnen zu Grunde zu legen. Insbesondere Frauen aus auswärtigen Kliniken mit nach alten Richtlinien klassifizierten Krankheitsbildern mussten aus der Studie ausgeschlossen werden.

Somit halfen auch die im Vergleich mit anderen Arbeiten eng gewählten Einschlusskriterien, die Qualität dieser Untersuchung zu sichern. Im Vergleich hierzu schlossen beispielsweise Kupferminc et al (1999) Patientinnen mit schwerer Präeklampsie genauso in ihre Studie ein, wie Patientinnen mit vorangegangener Totgeburt, fetaler Wachstumsretardierung oder vorzeitiger Plazentalösung

5.2.3 Molekularbiologische Untersuchungen

Die molekularbiologischen Untersuchungen wurden alle durch ein in den Untersuchungsmethoden erfahrenes Labor durchgeführt. Es erschien vorteilhaft, die experimentellen Arbeiten von speziell geschultem Fachpersonal durchführen zu lassen. Die Auswahl etablierter Verfahren und, wo möglich, die Verwendung kommerziell verfügbarer Materialien trug ebenfalls dazu bei, die Qualität der vorliegenden Ergebnisse zu sichern. Auch hier gewährleisteten die Durchführung der genetischen Tests durch eine einzige Fachkraft und der relativ kurze Untersuchungszeitraum die notwendige Konstanz für vergleichbare Ergebnisse. Schließlich soll betont werden, dass eine externe Kontrolle des Labors durch die Ringversuche der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie gewährleistet war.

Zur Methode selbst bleibt festzuhalten, dass das verwendete Verfahren nach Bertina et al (1994) seit mehr als acht Jahren die Methode der Wahl für den routinemäßigen Nachweis einer Faktor-V-Leiden oder Prothrombin-G20210A Mutation im Zusammenhang mit thromboembolischen Komplikationen darstellt. Dubreuil Lastrucci et al und Keeney et al beschreiben 1999 eine neuere Methode, die Multiplex Polymerase Chain Reaction, mit der

es möglich ist, mit Hilfe des Restriktionsenzym Hind III sowohl die Faktor-V-Leiden als auch die Prothrombin-G20210A Mutation in einem einzigen Arbeitsschritt gleichzeitig nachzuweisen. Dies wird dadurch möglich, dass beide Mutationen über die entsprechende Erkennungssequenz für das Restriktionsenzym Hind III verfügen, die entstehenden Spaltprodukte jedoch alle eine unterschiedliche Länge aufweisen. Der Vorteil der neuen Methode liegt vor allem in der Zeit- und Kostenersparnis. Qualitativ ist das neue Verfahren der in der vorliegenden Untersuchung angewandten Methode hingegen nicht überlegen. Zusammenfassend zeigt sich die gewählte Methodik für die in dieser Studie durchgeführten genetischen Nachweise geeignet. Für eine routinemäßige genetische Untersuchung, wie sie zum Beispiel im Zusammenhang mit möglichen Früherkennungsuntersuchungen (vergleiche hierzu Abschnitt 5.6) diskutiert wird, sollte jedoch aus Kostengründen die Verwendung des neueren Multiplex-PCR-Verfahrens erwogen werden.

5.2.4 Statistische Auswertung

Vogel (1999) definiert Statistik als „wissenschaftliche Disziplin, deren Gegenstand die Entwicklung und Anwendung formaler Methoden zur Gewinnung, Beschreibung und Analyse sowie zur Beurteilung quantitativer Beobachtungen ist“. Dabei muss zwischen deskriptiver Statistik, deren Ziel es ist, die Aspekte des Lebens zu beschreiben, und analytischer Statistik, die das so erfasste „Material mit zum Teil einfachen Mitteln wie Verhältniszahlen oder Mittelwerten zu verdichten“ versucht (Becker, 1993), unterschieden werden. Diese Definition entspricht der in der vorliegenden Arbeit angewandten Statistik. Wo es sinnvoll erschien, wurden darüber hinaus Verfahren zur Analyse von Abhängigkeiten, sogenannte Chi-Quadrat-Tests, verwendet (Bortz, 1989).

5.3 Untersuchtes Patientinnenkollektiv

Bevor näher auf die im Rahmen der Anamnese erhobenen Daten eingegangen wird, soll im Folgenden zuerst die Auswahl der Patientinnen dieser Untersuchung kritisch hinterfragt werden. Auch wenn die Teilnehmerinnen der Studie innerhalb eines relativ kurzen Zeitraumes rekrutiert und befragt wurden, so umfasst der Zeitraum der Erkrankungen eine Zeitspanne von mehreren Jahren. Dieses ist bedingt durch die Hinzunahme von früheren Patientinnen der Frauenklinik. Unter der Voraussetzung, dass auch für frühere Patientinnen die aktuellen Definitionen der Krankheitsbilder zugrunde gelegt wurden, ist aber daraus

kein Qualitätsverlust zu befürchten. Die Tatsache, dass alle Teilnehmerinnen aus Süddeutschland kommen, entspricht dem Vorgehen vergleichbarer Arbeiten. In allen bislang erwähnten Studien wurden ausschließlich Patientinnen der eigenen Klinik untersucht. Auf Schwierigkeiten im Zusammenhang mit der ethnischen Zusammensetzung des Patientinnenkollektivs auf Grund unterschiedlicher Häufigkeiten der einzelnen Mutationen in den verschiedenen Bevölkerungsgruppen soll in Abschnitt 5.4 näher eingegangen werden. Als Vorteil muss die Tatsache angesehen werden, dass neben Patientinnen der eigenen Klinik auch Frauen einer Selbsthilfegruppe für die Studie gewonnen werden konnten. Somit ist zumindest im Ansatz eine räumliche Streuung der Betroffenen vorhanden. Es sollte hingegen kritisch bedacht werden, dass sowohl Patientinnen einer Universitätsklinik als auch Frauen, die im Zusammenhang mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen eine Selbsthilfegruppe aufsuchen, möglicherweise von besonders schweren oder wiederholten Erkrankungen betroffen waren. Dadurch ist möglicherweise auch die hohe Anzahl an HELLP-Syndromen in der vorliegenden Arbeit zu erklären. In der Literatur wird die Häufigkeit der Präeklampsie etwa zehnfach höher angegeben als die des HELLP-Syndroms (Kolben, 1997). In der vorliegenden Arbeit hingegen waren etwa zwei Drittel der Teilnehmerinnen von einem HELLP-Syndrom, also einer besonders schweren Verlaufsform schwangerschaftsassoziierter Komplikationen, betroffen. Für die Suche nach einem generellen Zusammenhang zwischen Gerinnungsanomalien und hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen kann darin jedoch kein Nachteil gesehen werden.

Betrachtet man nun das Patientinnenkollektiv der vorliegenden Untersuchung näher, so findet sich weitgehende Übereinstimmung hinsichtlich epidemiologischer Daten mit anderen Untersuchungen bzw. mit der Allgemeinbevölkerung.

Das in der Literatur beschriebene Erkrankungsmaximum bei Erstgebärenden spiegelt sich in den Zahlen dieser Arbeit wider: Bei 67,8 Prozent der Patientinnen war die erste, bei 21,2 Prozent die zweite und in elf Fällen (9,3%) die dritte Schwangerschaft von einer hypertensiven Komplikation betroffen (Walker, 2000; Trupin et al, 1996).

Das Wiederholungsrisiko schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Erkrankungen liegt nach aktueller Lehrmeinung bei etwa 15 Prozent (Kolben, 1997). Visser et al berichten über ein Wiederholungsrisiko von 12,9 Prozent, sofern die erste Schwangerschaft betroffen war, und von 18,2 Prozent für Mehrgebärende (1997). Die Häufigkeit von 11,4 Prozent der Patientinnen der vorliegenden Arbeit, die bereits mehrfach erkrankt sind, liegt in diesem Bereich.

Das durchschnittliche Gestationsalter bei Entbindung wurde in der vorliegenden Arbeit mit 35,3 Wochen bestimmt. Literaturquellen beziffern die entsprechenden Durchschnittswerte zwischen 30,8 Wochen (Leeda et al, 1998) und 39,7 Wochen (Perry et al, 1994).

Ähnlich große Differenzen zwischen 60 und 92 Prozent finden sich bei der Frage nach dem Anteil an Schnittentbindungen (Reubinhoff et al, 1991; Rath, 1996). Gründe hierfür könnten im unterschiedlichen Vorgehen bei Diagnosestellung liegen. Während einige Kliniken eher abwartend verfahren, beenden andere die Schwangerschaft frühzeitig durch Sectio caesarea (Rath, 1996). Der Anteil an Schnittentbindungen liegt mit 79 Prozent in der vorliegenden Arbeit im Bereich der Literaturangaben.

Schließlich unterscheidet sich auch die beobachtete Aborthäufigkeit von 13,3 Prozent nicht im Vergleich zum Risiko einer gesunden Frau in der Allgemeinbevölkerung (Anderson et al, 2000; Gray et al, 2000).

Insgesamt muss festgehalten werden, dass das Patientenkollektiv der vorliegenden Untersuchung dem anderer Arbeiten weitgehend vergleichbar ist.

Abschließend soll das im Rahmen der statistischen Auswertung (vergleiche Abschnitt 3.3) näher untersuchte Teilkollektiv der Patientinnen, bei denen sich mindestens eine der drei untersuchten Mutationen, im Falle der MTHFR-C677T Mutation die homozygote Form, findet, nochmals dem Gesamtkollektiv gegenübergestellt werden. Bezüglich des mittleren Alters bei Ersterkrankung, des Geschlechts der Neugeborenen, des Vorhandenseins von Aborten in der Anamnese und der Häufigkeit der einzelnen Krankheitsbilder fanden sich keine nennenswerten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Die Frauen mit genetischen Veränderungen unterschieden sich vom Gesamtkollektiv lediglich bezüglich des Entbindungsmodus durch eine hohe Sectiorate und das häufige Vorhandensein klinischer Symptome bei Diagnosestellung. Angesichts der kleinen Fallzahl in diesem Teilkollektiv erscheint es jedoch nicht zulässig, weiterführende Schlüsse aus diesen Daten zu ziehen.

5.4 Faktor-V-Leiden, Prothrombin-G20210A und MTHFR-C677T Mutationen

Bereits seit vielen Jahren wird eine familiäre Häufung schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen in der Literatur beschrieben (Chesley et al, 1986; Arngrimsson et al, 1990; Arngrimsson et al, 1995; Cincotta et al, 1998; Mogren et al, 1999). Die dafür ver-

antwortlichen Gene konnten jedoch bislang nicht identifiziert werden (Roberts et al, 2001). In der Vergangenheit wurden unter anderem Mutationen im Genom für das Angiotensinogen, die Superoxid Dismutase, dem Tumor Nekrose Faktor Alpha (TNF α) und die endotheliale Nitroxid-Synthase als mögliche Ursachen diskutiert. Eine klare Kausalität konnte jedoch nicht nachgewiesen werden (Walker, 2000). Die Faktor V Leiden, die Prothrombin-G20210A und die homozygote MTHFR-C677T Mutation werden bereits seit längerem mit einem erhöhten Thromboserisiko in Verbindung gebracht. In den vergangenen Jahren vermutet man, dass in diesem Zusammenhang auch Schäden an den uteroplazentaren Gefäßen, die in der Schwangerschaft auftreten, zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade führen können. Möglicherweise induzieren Mikrothromben in den uteroplazentaren Arterien und im intervillösen Raum über eine plazentare Hypoxie die beschriebenen Krankheitsbilder. Der genaue Mechanismus konnte jedoch noch nicht aufgeklärt werden (van Pampus et al, 1999).

In der vorliegenden Arbeit wurden 105 Frauen mit schwerer Präeklampsie, Eklampsie, oder HELLP-Syndrom auf das Vorliegen einer Faktor-V-Leiden, einer Prothrombin-G20210A und einer MTHFR-C677T Mutation überprüft. Es ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit dieser drei Mutationen verglichen mit dem Vorkommen in der Allgemeinbevölkerung. Diese Ergebnisse stimmen mit einigen der in den vergangenen Jahren veröffentlichten Daten überein (Groot et al, 1999; Kim et al, 2000; Livingston et al, 2001; Morrison et al, 2002; O'Shaughnessy et al, 2002; Rigo et al, 2000). Andere Untersuchungen der letzten Zeit kamen jedoch zu gegensätzlichen Ergebnissen und konnten signifikante Zusammenhänge zwischen schwangerschaftsinduzierten hypertensiven Komplikationen und dem Vorkommen einer oder mehrerer dieser drei Mutationen aufzeigen (Dizon-Towson et al, 1996; Grandone et al, 1997; Grandone et al, 1999; Kupferminc et al, 1999; Kupferminc et al, 2000; Lindoff et al, 2000; Rigo et al, 2000; Tempelhoff et al, 2000). Tabelle 1 in Abschnitt 5.1 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse der erwähnten Arbeiten. Es finden sich in den verschiedenen untersuchten Patientenkollektiven Häufigkeiten für die Faktor-V-Leiden Mutation in einer Spanne von 4,3 Prozent bis maximal 24,0 Prozent. Die Prothrombin-G20210A Mutation wird einmal überhaupt nicht beobachtet, ein anderes Mal tritt sie mit einer Häufigkeit von 11,4 Prozent auf. Bezüglich der MTHFR-C677T Mutation schließlich zeigt sich ein Vorkommen von minimal 6,7 Prozent und maximal 29,8 Prozent.

Diese Diskrepanz der Resultate ist auffällig. Bei genauerer Betrachtung der einzelnen Arbeiten können vier mögliche Ursachen dieser kontroversen Ergebnisse ausgemacht werden: die unterschiedliche Zusammensetzung des Patientinnenkollektivs, unterschiedliche Klassifikation und Grenzwerte bei der Zuordnung der einzelnen Krankheitsbilder, unterschiedliche Fallzahlen und verschieden ausgewählte Kontrollgruppen.

Zuerst sollen also die Einschlusskriterien der verschiedenen Arbeiten näher betrachtet werden. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden nur Patientinnen aufgenommen, die nach den Richtlinien des ACOG technical bulletin (1996) die Kriterien eines HELLP-Syndroms, einer schweren Präeklampsie oder einer Eklampsie erfüllten. Vergleicht man diese Auswahl mit der anderer Studien, so finden sich neben den erwähnten Krankheitsbildern auch Patientinnen mit einfacher schwangerschaftsinduzierter Hypertonie, leichter Präeklampsie, Totgeburten, intrauteriner Wachstumsretardierung oder intrauterinem Fruchttod in der Anamnese (Grandone et al, 1997; Grandone et al, 1999; Groot et al, 1999; Kupferminc et al, 1999; Kupferminc et al, 2000; Lindoff et al, 2000; Morrison et al, 2002; O'Shaughnessy et al, 2002 und Rigo et al, 2000). Nur vier Arbeiten der vergangenen Jahre begrenzen ihre Einschlusskriterien auf die drei oben aufgeführten Erkrankungen und sind somit leichter mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie vergleichbar (Kim et al, 2000; Livingston et al, 2001; Dizon-Townson et al, 1996; Tempelhoff et al, 2000). Bei genauerer Betrachtung findet sich eine Übereinstimmung der Ergebnisse von Kim et al (2000) für das Auftreten einer Faktor-V-Leiden und einer MTHFR-C677T Mutation und derer von Livingston et al (2001) bezüglich aller drei Mutationen verglichen mit dieser Arbeit. Dizon-Townson et al (1996) und Tempelhoff et al (2000) finden in ihren Untersuchungen im Gegensatz zur vorliegenden Studie eine signifikant erhöhte Anzahl an Faktor-V-Leiden Mutationen in ihrem Patientinnenkollektiv. Es erscheint falsch, nur die den Einschlusskriterien nach gleichen Studien zum Vergleich zuzulassen, insbesondere in Anbetracht der Tatsache, dass auch für Fehl- und Totgeburten ein gehäuftes Auftreten der genannten Mutationen beschrieben wird (Foka et al, 2000; Brenner et al, 1999; Ridker et al, 1998). Eine gemeinsame genetische Ursache erscheint deshalb durchaus möglich. Dennoch liegt die Überlegung nahe, bei kommenden Untersuchungen um einer besseren Beurteilbarkeit der Ergebnisse willen die Auswahl auf einzelne Krankheitsbilder zu begrenzen. Nach der Identifizierung der verantwortlichen Mutationen könnten dann auch die einfache schwangerschaftsinduzierte Hypertonie oder leichte Formen der Präeklampsie auf einen möglichen Zusammenhang untersucht werden.

Beim Vergleich der verschiedenen Arbeiten muss weiter beachtet werden, dass die Faktor-V-Leiden Mutation in ihrer Häufigkeit in der Allgemeinbevölkerung abhängig von der ethnischen Zusammensetzung derselben stark schwankt (Dzimiri et al, 1996). In den meisten westeuropäischen Ländern, sowie in Nord- und Südamerika wird eine durchschnittliche Häufigkeit von sieben Prozent (Rees et al, 1995) beschrieben. In Japan oder auf dem afrikanischen Kontinent hingegen kommt die Faktor-V-Leiden Mutation überhaupt nicht vor, in Griechenland ist sie mit einer Frequenz von 13,4 Prozent überdurchschnittlich häufig (Chromogenix, 1996).

Wissenschaftler sehen im Vorhandensein der Mutation einen Selektionsvorteil im Rahmen der Evolution (Schafer, 1997). Insbesondere in früheren Zeiten bot diese einen gewissen Schutz vor größeren Blutungen bei Verletzungen (Hopmeier, 1996). Frauen im gebärfähigen Alter bewahrte sie vor starkem Blutverlust und in der Folge vor Eisenmangel, bedingt durch die Menstruation. Schwangere waren weniger durch Hämorrhagien im Rahmen der Geburt gefährdet (Rees et al, 1995). Das mit der Faktor-V-Leiden Mutation verbundene, gesteigerte Thromboserisiko kam möglicherweise weniger zum Tragen, weil viele Risikosituationen für thromboembolische Komplikationen erst durch das moderne Leben bedingt sind (Hopmeier, 1996).

Die Patientinnen der vorliegenden Untersuchung sind alle kaukasischer Rasse. Hier diente deshalb eine durchschnittliche Häufigkeit von sieben Prozent als Kontrolle (Rees et al, 1995) Die Problematik des Vergleichs mit einer Kontrollgruppe im Rahmen sogenannter Fall-Kontroll-Studien soll weiter unten genauer erörtert werden. Stellt man nun die vorliegende Studie anderen Arbeiten gegenüber, so fällt auf, dass beispielsweise bei O'Shaughnessy et al (1999) alle Patientinnen aus Grossbritannien stammen. Für Grossbritannien wird jedoch die Häufigkeit der Faktor-V-Leiden Mutation bereits für die Normalbevölkerung mit bis zu 8,9 Prozent beziffert (Chromogenix, 1996). Unterschiedliche Häufigkeiten der Faktor-V-Leiden Mutation in der Durchschnittsbevölkerung müssen somit als möglich Ursache für unterschiedliche Ergebnisse der verschiedenen Arbeiten in Betracht gezogen werden.

Ähnliche Untersuchungen bezüglich einer unterschiedlichen ethnischen Häufigkeit der Prothrombin-G20210A und der MTHFR-C677 Mutation können nicht gefunden werden. Für einen fundierten Vergleich verschiedener Untersuchungen zu diesen genetischen Veränderungen wären sie jedoch von großem Interesse, da eine Variation zwischen den Bevölkerungsgruppen ebenfalls wahrscheinlich erscheint.

Betrachtet man nun als zweites die Definition der hypertensiven Schwangerschafts-erkrankungen in den Arbeiten der vergangenen Jahre, so sind auch hier Unterschiede zu bemerken (World Health Organisation Study Group, 1987). Von einer schweren Präeklampsie wird in der vorliegenden Studie dann gesprochen, wenn der systolische Blutdruck Werte von 160 mmHg oder der diastolische Druck Werte von 110 mmHg erreicht oder überschreitet und es zu einer Proteinurie von mindestens 5 g / 24 h oder einer Oligurie von weniger als 400 ml / 24 h kommt, bzw. wenn Thrombozytopenie, erhöhte Aminotransferasen, erhöhtes Serumkreatinin, Hyperreflexie, Kopfschmerzen, Sehstörungen, Oberbauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen oder intrauterine Wachstumsretardierung auftreten (ACOG technical bulletin, 1996). Vergleicht man diese von uns verwendete Definition mit der anderer Studien, so wird eine schwere Präeklampsie bei de Groot et al (1999) ausschließlich bei einem diastolischen Blutdruck von mehr als 110 mmHg oder einer Proteinurie von mehr als 100 mg/dl angenommen. Letztere wurde in dieser Arbeit nur mittels Urin-Streifentest ermittelt. Die Studie von Grandone et al (1999) unterscheidet überhaupt nicht zwischen einer leichten und schweren Präeklampsie und schließt Patientinnen ab einem Blutdruck von 140 mmHg systolisch oder 90 mmHg diastolisch und einer Proteinurie von mindestens 300ml/24h in das Kollektiv ein. Ein verlässlicher Vergleich dieser Arbeiten erscheint nur schwer möglich.

Weiter fällt bei näherer Betrachtung der verglichenen Arbeiten auf, dass vier Studien mit einer Fallzahl von unter 100 Patientinnen arbeiten (Grandone et al, 1997; Kupferminc et al, 2000; Lindoff et al, 2000; Tempelhoff et al, 2000). Empfehlungen, die sich aus Untersuchungen mit kleinen Fallzahlen herleiten, sollten immer zurückhaltend geäußert werden. Es fällt auf, dass Studien mit großen Fallzahlen, wie die von Morrison et al (2002) mit einer Patientinnenzahl von etwa 400, oder die Arbeit von O'Shaughnessy et al (2002) mit einer Fallzahl von knapp 300 eher zurückhaltend sind, einen Zusammenhang zwischen schwangerschaftsinduzierten hypertensiven Erkrankungen und einer Faktor-V-Leiden, einer Prothrombin-G20210A oder einer MTHFR-C677T Mutation zu sehen.

Schließlich erweist sich die Auswahl einer Kontrollgruppe oftmals als problematisch. In den erwähnten Arbeiten werden diese auf sehr unterschiedliche Weise ausgewählt. De Groot et al (1999) schließt in die Kontrollgruppe alle Frauen ein, welche nicht die Kriterien einer Präeklampsie erfüllen, ohne dass das Patientinnengut näher bezeichnet wird.

Schwangere mit normalen Blutdruck stellen in der Studie von Dizon-Towson et al (1996) die Vergleichsgruppe. Auch hier geben die Autoren keine Auskunft über die genauere Beschaffenheit des Vergleichskollektivs. O'Shaughnessy et al (2002) wählen als Kontrollgruppe zur Hälfte gesunde Schwangere der gleichen Klinik. Die zweite Hälfte errechnet er aus der Häufigkeit der Mutationen in der Allgemeinbevölkerung. Dieses Vorgehen erscheint ebenfalls willkürlich und bietet somit eine weitere Fehlerquelle. Angesichts dieses Vorgehens erscheint es gerechtfertigt, wie im Rahmen der vorliegenden Untersuchung geschehen, auf ein Vergleichskollektiv zu verzichten und statt dessen die ermittelten Ergebnisse mit der in der Literatur angegebenen Häufigkeit in der Allgemeinbevölkerung zu vergleichen.

Zusammenfassend finden sich verschiedene mögliche Ursachen für die so gegensätzlichen Ergebnisse in den Arbeiten der vergangenen Jahre zu diesem Thema. Keine der ausgeführten Thesen vermag jedoch die vorhandenen Widersprüche umfassend zu erklären, so dass weitere Forschung auf diesem Gebiet dringend notwendig erscheint. Dabei könnten vor allem große Multicenter-Studien, sowie die Benutzung moderner Chip-Technologien und multipler Mikrosatelliten-Marker zur Genomuntersuchung helfen, Antworten auf die Frage der Rolle genetischer Veränderungen in der Genese schwangerschaftsinduzierter hypertensiver Erkrankungen zu liefern (Walker, 2000).

5.5 Früherkennungsuntersuchungen

Sinn und Notwendigkeit von Screeninguntersuchungen zu hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen werden im Rahmen der bereits mehrfach genannten Untersuchungen der vergangenen Jahre zu diesem Themenkomplex so unterschiedlich wie die Ergebnisse dieser Untersuchungen diskutiert. Die Tatsache, dass im Rahmen der vorliegenden Untersuchung 50,5 Prozent der Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung asymptomatisch waren und nur durch bereits etablierte Vorsorgeuntersuchungen aufgefallen sind, macht den Wert bereits vorhandener Früherkennung deutlich.

Voraussetzungen einer allgemeinen Früherkennungsuntersuchung sind das Vorhandensein eines etablierten Verfahrens, dessen einfache Durchführung und Finanzierbarkeit, sowie eine gesicherte Therapieoption.

Der Zusammenhang zwischen genetischen Veränderungen im Bereich der Gerinnung und Erkrankungen wie Präeklampsie oder HELLP-Syndrom kann angesichts der unterschiedlichen Ergebnisse der Studien der vergangenen Jahre nicht als wissenschaftlich gesichert gelten. Darüber hinaus wären genetische Screeninguntersuchungen teuer und nur von spezialisierten Labors durchführbar. Schließlich ist auch die Frage nach einer Therapieoption im Rahmen der primären Prävention, also vor Ausbruch des Krankheitsbildes, nicht geklärt. Diskutiert werden hier vor allem die niedrig dosierte Gabe von Acetylsalicylsäure in einer Größenordnung von 50 bis 100 mg täglich, sowie die Anwendung niedrigmolekularen Heparins (Sibai et al, 1993; Kupferminc et al, 2001; Riyazi et al, 1998). Dabei wird die Wirkung der Acetylsalicylsäure vor allem mit einer Senkung des Thromboxanspiegels ohne gleichzeitige Veränderung des Prostazyklinspiegels erklärt (Regan et al, 1989). Thromboxan wird als ein möglicher Mediator der uteroplazentaren Perfusionseinschränkung gesehen, die die umschriebenen Krankheitsbilder mit auslösen soll (Fitzgerald und FitzGerald, 1990). Indikationen und Wirksamkeit einer solchen Therapie werden jedoch widersprüchlich beurteilt. Während Goffinet et al (2001) für Hochrisikopatientinnen einen Vorteil in der prophylaktischen Acetylsalicylsäuregabe sehen, wird dies von Caritis et al aufbauend auf einer klinischen Studie aus dem Jahre 1998 bestritten.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass nach aktuellem Stand der Wissenschaft genetische Untersuchungen im Rahmen der Primärprävention hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen nicht sinnvoll erscheinen. Vielmehr existieren über regelmäßige Blutdruckerfassung und Urinuntersuchung im Rahmen der Schwangerenvorsorge einfache, günstige und effektive Methoden zur Früherkennung der entsprechenden Krankheitsbilder. Darüber hinaus gibt es mit der Dopplersonographie der uteroplazentaren Gefäße eine apparative Methode, die in der Lage zu sein scheint, aus einer eingeschränkten uteroplazentaren Perfusion in der 20. bis 24. Schwangerschaftswoche frühzeitig auf eine später auftretende hypertensive Komplikation zu schließen (Goffinet et al, 2001; Joern et al, 1999).

Stetige Bemühungen um ein tiefergehendes Verständnis der Ursachen dieser Erkrankungen und die Suche nach brauchbaren Verfahren zur primären Prävention bleiben dennoch notwendig.

6 Ausblick

In den vorangegangenen Abschnitten wurde bereits auf wesentliche Perspektiven für die weitere Forschung auf dem Gebiet hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen hingewiesen. Im Folgenden sollen diese nochmals zusammenfassend dargestellt werden.

Die widersprüchlichen Ergebnisse vergangener Arbeiten zur Frage nach einem kausalen Zusammenhang zwischen hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen und genetisch bedingten Gerinnungsanomalien machen weiterführende Forschung nötig. Hierbei sollte insbesondere auf ausreichend grosse Fallzahlen und klare Abgrenzung der einzelnen Krankheitsbilder geachtet werden. Multicenter-Studien könnten helfen, regionale Unterschiede in der Häufigkeit der einzelnen Mutationen zu berücksichtigen und Selektion bei der Auswahl der Patienten zu vermeiden (Broughton, 1999).

Daneben empfehlen auch andere Autoren, die genannten möglichen Zusammenhänge im Rahmen von Familienstudien zu untersuchen. Somit könnte es gelingen, neben maternalen auch weitere eventuelle Erbfaktoren zu erkennen (Walker, 2000).

Neuere Methoden zur molekulargenetischen Untersuchung liefern die technischen Voraussetzungen für diese Forschung (Dubreuil Lastrucci et al, 1999; Keeney et al, 1999).

Schließlich muß festgehalten werden, dass neben den Bemühungen um ein kausales Verständnis hypertensiver Schwangerschaftserkrankungen die Suche nach neuen Therapieoptionen, insbesondere im Rahmen der Prävention, nach wie vor wichtig erscheint.

Häufigkeit und Schwere schwangerschaftsassoziierter hypertensiver Komplikationen rechtfertigen den geforderten Aufwand für weitergehende Forschung in diesem Bereich.

7 Zusammenfassung

Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen und genetischen Gerinnungsstörungen lieferten in den vergangenen Jahren gegensätzliche Ergebnisse.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine mögliche Kausalität im Rahmen einer klinischen Studie erneut zu überprüfen. Zu diesem Zweck wurden 105 Frauen, die nach aktueller Definition entweder an einer schweren Präeklampsie, einer Eklampsie oder einem HELLP-Syndrom in mindestens einer Schwangerschaft gelitten haben, auf die drei häufigsten in diesem Kontext diskutierten Mutationen, die Faktor-V-Leiden, die Prothrombin-G20210A und die MTHFR-C677T Mutation, überprüft.

Die molekularbiologischen Untersuchungen ergaben dabei eine Häufigkeit von 6,7 Prozent für die Faktor-V-Leiden Mutation und von 4,8 Prozent für die Prothrombin-G20210A Mutation, wobei letztere in einem Fall homozygot auftrat. Die MTHFR-C677T Mutation fand sich zu 46,7 Prozent in heterozygoter und in 13,3 Prozent in homozygoter Form.

Der Vergleich der Ergebnisse mit einer durchschnittlichen Häufigkeit von 7,0 Prozent für die Faktor-V-Leiden, 4,0 Prozent für die Prothrombin-G20210A und 11,0 Prozent für die homozygote MTHFR-C677T Mutation in der Allgemeinbevölkerung erbrachte auf dem Niveau von fünf Prozent in allen drei Fällen keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$).

Im Rahmen der Diskussion zeigte die Gegenüberstellung vergleichbarer Arbeiten seit 1996 mögliche Ursachen für die Diskrepanz der Ergebnisse auf, ohne dass die vorhandenen Widersprüche jedoch vollständig aufgeklärt werden konnten.

Die vielfach ausgesprochene Empfehlung zur routinemäßigen genetischen Früherkennungsuntersuchung für die genannten Mutationen kann aus den Ergebnissen dieser Arbeit nicht abgeleitet werden. Vielmehr erscheint es notwendig, den hier untersuchten möglichen Zusammenhang erneut in Studien mit großer Fallzahl und klarer Abgrenzung der einzelnen Krankheitsbilder zu überprüfen.

8 Verzeichnis verwendeter Literatur

ACOG technical bulletin

Hypertension in Pregnancy

Int J Gynaecol Obstet 53 (1996): 175-183

Andersen N, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M

Maternal Age and Fetal Loss: Population Based Register Linkage Study

BMJ 320 (2000): 1708-1712

Arngrimmson R, Bjornsson S, Geirsson RT

Analysis of Different Inheritance Patterns in Preeclampsia/Eclampsia Syndrome

Hypertens Preg 14 (1995): 27-38

Arngrimmson R, Bjornsson S, Geirsson RT, Bjornsson H, Walker JJ, Snaedal G

Genetic and familial Predisposition to Eclampsia and Preeclampsia in a Defined Population

Br J Obstet Gynaecol 97 (1990): 762-769

Bakowsky-Enzian B

Spezielle Grundlagen der Gerinnung

in: Kiesewetter H, Koscielny J, Offermann M (Hrsg.), Modernes Thromboembolie-Management

Erlangen: Pharmacia & Upjohn GmbH, 1999

Becker B

Statistik

München, Wien, Oldenbourg: R. Oldenbourg, 1993

Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Ronde de H, Velden van der PA, Reitsma PH

Mutation in Blood Coagulation Factor V Associated with the Resistance to Activated Protein C

Nature 369 (1994): 64-67

Bortz J

Statistik für Sozialwissenschaftler

3., neu bearbeitete Auflage

Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 1989

Brenner B, Sarig G, Weiner Z

Thrombophilic Polymorphisms are Common in Women with Fetal Loss without Apparent Cause

Thromb Haemost 82 (1999): 6-9

Broughton PF

What is the Place of Genetics in the Pathogenesis of Pre-Eclampsia?

Biol Neonat 76 (1999): 325-330

Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer MD, Klebanoff M, Thom E, Dorsten van P, Landon M, Paul R, Miodovnik M, Meis P, Thurnau G
Low-Dose Aspirin to Prevent Preeclampsia in Women at High Risk
N Engl J Med 338 (1998): 701-705

Chappell L, Poulton L, Halligan A, Shennan AH
Lack of Consistency in Research Papers over the Definition of Pre-eclampsia
Br J Obstet Gynaecol 106 (1999): 983-985

Chesley LC, Cooper DW
Genetics of Hypertension in Pregnancy: Possible Single Gene Control of Preeclampsia and Eclampsia in the Descendants of Eclamptic Women
Br J Obstet Gynaecol 93 (1986): 898-908

Chromogenix
APC-Resistance, Version 1.0
Moelndal, Sweden: Chromogenix, 1996

Chua S, Wilkins T, Sargent I, Redman C
Trophoblast Deportation in Pre-Eclamptic Pregnancy
Br J Obstet Gynaecol 98 (1991): 973-979

Cincotta RB, Brennecke SP
Family History of Preeclampsia as a Predictor for Preeclampsia in Primigravidas
Int J Gynaecol Obstet 60 (1998): 23-27

Cumming AM, Keeney S, Salden A, Bhavnani M, Shwe KH, Hay CR
The Prothrombin Gene G20210A Variant: Prevalence in a UK. Anticoagulant Clinic Population
Br J Haematol 98 (1997): 353-355

Dekker GA, Sibai BM
Etiology and Pathogenesis of Preeclampsia: Current Concepts
Am J Obstet Gynecol 167 (1998): 1359-1375

Dizon-Townson DS, Nelson LM, Easton K, Ward K
The Factor V Leiden Mutation May Predispose Women to Severe Preeclampsia
Am J Obstet Gynecol 175 (1996): 902 – 905

Dubreuil Lastrucci RM, Dawson DA, Bowden JH, Münster M
Development of a Simple Multiplex Polymerase Chain Reaction for the Simultaneous Detection of Factor V Leiden and Prothrombin 20210A Mutations
Molecular Diagnosis 4 (1999): 247-250

Dürig P
Hypertensive Schwangerschaftserkrankungen
in: Schneider H, Husslein P, Schneider KM (Hrsg.), Geburtshilfe
Berlin, Heidelberg: Springer, 2000

Dzimiri N, Meyer B
World Distribution of Factor V Leiden
Lancet 347 (1996): 481-482

Fitzgerald DJ, FitzGerald GA
Eicosanoids in the Pathogenesis of Preeclampsia
In: Laragh JH, Brenner BM (Hrsg.), Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and Management
New York: Raven Press, 1990: 1789-1807

Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A
Factor V Leiden and Prothrombin G20210A Mutations, but not Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T, are Associated with Recurrent Miscarriages
Human Reprod 15 (2000): 458-462

Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen R
A Candidate Genetic Risk Factor for Vascular Disease: A Common Mutation in Methylenetetrahydrofolate Reductase
Nature Genetics 10 (1995): 111-113

Girling J, de Swiet M
Inherited Thrombophilia and Pregnancy
Curr Opin Obstet Gynecol 10 (1998): 135-144

Goffinet F, Aboulker D, Paris-Llado J, Bucourt M, Uzan M, Papiernik E, Bréart G
Screening with a Uterine Doppler in Low Risk Pregnant Women Followed by a Low Dose Aspirin in Women with Abnormal Results: A Multicenter Randomised Controlled Trial
Br J Obstet Gynaecol 108 (2001): 510-518

Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Cappucci G, Paladini D, Martinelli P, Montanaro S, Pavone G, Di Minno G
Factor V Leiden, C>T MTHFR Polymorphism and Genetic Susceptibility to Preeclampsia
Thromb Haemost 77 (1997): 1052-1054

Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Cappucci G, Sciannamé N, Montanaro S, Paladini D, Martinelli P, Di Minno G
Prothrombotic Genetic Risk Factors and the Occurrence of Gestational Hypertension with or without Proteinuria
Thromb Haemost 81 (1999): 349-352

Gray RH, Wu LY
Subfertility and Risk of Spontaneous Abortion
Am J Public Health 90 (2000): 1452-1452

Greger R, Windhorst U (Hrsg.)
Comprehensive Human Physiology: From Cellular Mechanisms to Integration
Berlin, Heidelberg: Springer, 1996

de Groot C, Bloemenkamp KWM, Duvekot EJ, Helmerhorst FM, Bertina RM, van der Meer F, de Ronde H, Oei SG, Kanhai HHH, Rosendaal FR
Preeclampsia and Genetic Risk Factors for Thrombosis: A Case-Control Study
Am J Obstet Gynecol 181 (1999): 975-980

Haig D
Genetic Conflicts in Human Pregnancy
Q Rev Biol 68 (1993): 495-532

Hopmeier P
Aktivierte Protein C-Resistenz- eine Standortbestimmung
Wiener Klein Wochenschr 108 (1996): 599-606

Joern H, Funk A, Rath W
Doppler Sonographic Findings for Hypertension in Pregnancy and HELLP Syndrome
J Perinat Med 27 (1999): 388-394

Keeney S, Salden A, Hay C, Cumming A
A Whole Blood, Multiplex PCR Detection Method for Factor V Leiden and the Prothrombin G20210A Variant
Thromb Haemost 81 (1999): 464-465

Kim YJ, Williamson RA, Murray JC, Andrews J, Pietscher JJ, Peraud PJ, Merrill DC
Genetic Susceptibility to Preeclampsia: Roles of Cytosine-to-Thymine Substitution at Nucleotide 677 of the Gene for Methylene-tetrahydrofolate Reductase, 68-Base Pair Insertion at Nucleotide 844 of the Gene for Cystathionine β -Synthase, and Factor V Leiden Mutation
Am J Obstet Gynecol 184 (2001): 1211-1217

Kolben M
Pathophysiologie, Klinik und Management der Präeklampsie und des HELLP-Syndroms
Med Welt 48 (1997): 290-294

Kraus M
The Antikoagulant Potential of the Protein C System in Hereditary and Acquired Thrombophilia: Pathomechanisms and New Tools for Assessing its Clinical Relevance
Thromb Haemost 24 (1998): 337-354

Kupfermanc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, Fait G, Lessing JB
Increased Frequency of Genetic Thrombophilia in Women with Complications of Pregnancy
N Engl J Med 340 (1999): 9-13

Kupfermanc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB
Severe Preeclampsia and High Frequency of Genetic Thrombophilic Mutations
Obstet Gynecol 96 (2000): 45-49

Kupfermanc MJ, Fait G, Many A, Lessing JB, Yair D, Bar-Am A, Eldor A
Low-Molecular-Weight Heparin for the Prevention of Obstetric Complications in Women with Thrombophilias
Hypertens Pregnancy 20 (2001): 35-44

Leeda M, Riyazi N, de Vries JIP, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA
Effects of a Folic Acid and Vitamin B6 Supplementation on Women with Hyperhomocysteinemia and a History of Preeclampsia or Fetal Growth Restriction
Am J Obstet Gynecol 179 (1998): 135-139

Lindoff C, Ingemarsson I, Martinsson G, Segelmark M, Thysell H, Åstedt B
Preeclampsia is Associated with a Reduced Response to Activated Protein C
Am J Obstet Gynecol 176 (1997): 457-460

Linfert DR, Tsongalis GJ
Coexistence of the Methylenetetrahydrofolate Reductase Single-Nucleotide Polymorphism (C677T) in Patients with the Factor V Leiden or Prothrombin G20210A Polymorphisms
Diagn Mol Pathol 10 (2001): 111-115

Livingston JC, Barton JR, Park V, Haddad B, Phillips O, Sibai BM
Maternal and Fetal Inherited Thrombophilias are not Related to the Development of Severe Preeclampsia
Am J Obstet Gynecol 185 (2001): 153-157

Lockwood CJ
Inherited Thrombophilias in Pregnant Patients
Prenat Neonat Med 6 (2001): 3-14

Lockwood CJ
Inherited Thrombophilias in Pregnant Patients: Detection and Treatment Paradigm
Obstet Gynecol 99 (2002): 333-341

Loke YW, King A
Immunology of Human Placental Implantation: Clinical Implications of our Current Understanding
Mol Med Today (1997): 153-159

Lorentzen B, Endresen MJ, Clausen T, Henriksen T
Fasting Serum Free Fatty Acids and Triglycerides are Increased before 20 Weeks of Gestation in Women who Later Develop Preeclampsia
Hypertens Pregn 13 (1994): 103-109

Mogren I, Hogberg U, Winkvist A, Stenlund H
Familial Occurrence of Preeclampsia
Epidemiology 10 (1999): 518-522

Morrison ER, Miedzybrodzka ZH, Campbell DM, Haites NE, Wilson BJ, Watson MS, Greaves M, Vickers MA
Prothrombotic Genotypes are not Associated with Preeclampsia and Gestational Hypertension: Results from a Large Population-Based Study and Systematic Review
Tromb Haemost 87 (2002): 779-785

Müller-Berghaus G, Pötzsch B (Hrsg.)
Hämostaseologie: molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik
Berlin, Heidelberg: Springer, 1999

North RA, Taylor RS, Schellenberg JC
Evaluation of a Definition of Pre-Eclampsia
Br J Obstet Gynaecol 106 (1999): 767-773

O'Shaughnessy KM, Ferraro F, Lewis I, Downing S, Morris NH
Factor V Leiden and Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Variants in an
East Anglian Preeclampsia Cohort
Hypertension 33 (1999): 1338-1341

Pabinger-Fasching I
Epidemiologie der funktionellen Inhibitormängel und weiterer hereditärer Risikofaktoren für
venöse Thromboembolien
in: Müller-Berghaus G und Pötzsch B (Hrsg.), Hämostaseologie: molekulare und zelluläre
Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik
Berlin, Heidelberg: Springer, 1999: 304-309

van Pampus MG, Dekker GA, Wolf H, Huijgens PC, Koopmann MW, von Blomberg ME,
Büller HR
High Prevalence of Hemostatic Abnormalities in Women with a History of Severe Pre-
eclampsia
Am J Obstet Gynecol 180 (1999): 1146-1150

Perry IJ, Beevers DG
The Definition of Pre-eclampsia
Br J Obstet Gynaecol 101 (1994): 587-591

Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM
A Common Genetic Variation in the 3'-Untranslated Region of the Prothrombin Gene is
Associated with Elevated Plasma Prothrombin Levels and an Increased Venous Thrombosis
Blood 88 (1996): 3698-3703

Rath W
Aggressives Versus Konservatives Vorgehen beim HELLP-Syndrom-eine Standort-
bestimmung
Geburtsh u Frauenheilk 56 (1996): 265-271

Rath W, Reister F
Früherkennung des HELLP-Syndroms
Frauenarzt 40 (1999): 914-921

Redman CWJ, Jefferies M
Revised Definition of Pre-eclampsia
Lancet i (1988): 809-812

Rees DC, Cox M, Clegg JB
World Distribution of Factor V Leiden
Lancet 346 (1995): 1133-1134

Regan CL, McAdam BF, McParland P, Boylan PC, FitzGerald GA, Fitzgerald DJ
Reduced Fetal Exposure to Aspirin Using a Novel Controlled-Release Preparation in
Normotensive and Hypertensive Pregnancies
Br J Obstet Gynaecol 105 (1998): 732-738

Reubinoff BE, Schenker JG
HELLP-Syndrome- a Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet
Count- Complicating Preeclampsia-Eclampsia
Int J Gynaecol Obstet 36 (1991): 96-107

Ridker PM, Miletich JP, Buring JE
Factor V Leiden Mutation as a Risk Factor for Recurrent Pregnancy Loss
Ann Intern Med 128 (1998): 1000-1003

Rigo J, Nagy B, Fintor L, Tanyi J, Beke A, Karadi I, Pazz Z
Maternal and Neonatal Outcome of Preeclamptic Pregnancies: the Potential Roles of Factor V
Leiden Mutation and 5,10 Methylene-tetrahydrofolate Reductase
Hypertens Pregnancy 19 (2000): 163-172

Riyazi N, Leeda M, de Vries JI, Huijgens PC, Geijn HP, Dekker GA
Low-Molecular-Weight Heparin Combined with Aspirin in Pregnant Women with
Thrombophilia and a History of Preeclampsia or Fetal Growth Restriction: A Preliminary
Study
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 80 (1998): 49-54

Roberts JM, Cooper DW
Pathogenesis and Genetics of Preeclampsia
Lancet 357 (1991): 53-56

Schafer AI
Molecular Mechanisms of Hypercoagulable States
Heidelberg: Springer, 1997

Shorter SC, Starkey PM, Ferry BL, Clover LM, Sargent IL, Redman CWG
Antigenic Heterogeneity of Human Cytotrophoblast and Evidence for the Transient
Expression of MHC Class Antigens Distinct from HLA-G
Placenta 14 (1993): 571-582

Sibai BM, Caritis SN, Thom E, Klebanoff M, McNellis D, Rocco L, Paul RH, Romero R,
Witter F, Rosen M, Depp R
Prevention of Preeclampsia with Low-Dose Aspirin in Healthy, Nulliparous Pregnant Women
N Engl J Med 329 (1998): 1213-1218

Smarason AK, Sargent IL, Starkey PM, Redman CWG
The Effect of Placental Syncytiotrophoblast Microvillous Membranes from Normal and Pre-
Eclamptic Women on the Growth of Endothelial Cells in Vivo
Br J Obstet Gynaecol 100 (1993): 943-949

Tempelhoff GF, Heilmann L, Spanuth E, Kunzmann E, Hommel G
Incidence of the Factor V Leiden-mutation, Coagulation Inhibitor Deficiency, and Elevated Antiphospholipid-Antibodies in Patients with Preeclampsia or HELLP-Syndrome
Thrombosis Research 100 (2000): 363-365

Trupin LS, Simon LP, Eskenazi B
Change in Paternity; A Risk Factor for Preeclampsia in Multiparas
Epidemiology 7 (1996): 240-244

Visser W, Wallenburg HCS
Prospective Assessment of the Recurrence Risk of Preeclampsia
Hypert Pregnancy 16 (1997): 128

Vogel F
Beschreibende und schließende Statistik: Formen, Definitionen, Erläuterungen, Stichwörter und Tabellen
11. ergänzte Auflage
München, Wien, Oldenbourg: R. Oldenbourg, 1999

Walker JJ
Pre-Eclampsia
Lancet 365 (2000): 1260-1265

Weinstein L
Syndrome of Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, and Low Platelet Count: A Severe Consequence of Hypertension in Pregnancy
Am J Obstet Gynecol 142 (1987): 159-168

Wilcken D
MTHFR 677C-T Mutation, Folate Intake, Neural-Tube Defect, and Risk of Cardiovascular Disease
Lancet 350 (1997): 603-604

Witlin AG, Saade GR, Mattar F, Sibai BM
Risk Factors for Abruptio Placentae and Eclampsia: Analysis of 445 Consecutively Managed Women with Severe Preeclampsia and Eclampsia
Am J Obstet Gynecol 180 (1999): 1322-1329

Witt I, Zimmer E
Protein C – Klinische Bedeutung und Bestimmungsmethoden. Symposium über Protein C
Berlin, New York: Walter de Gruyter, 1986

World Health Organisation Study Group
The Hypertensive Disorders of Pregnancy
WHO Technical Report Series, No. 758
Geneve: World Health Organisation, 1987

9 Anhang

9.1 Erhebungsbogen

Identifikationsnummer

Datum des Interviews

Name

Vorname

Geburtstag

Anzahl der Schwangerschaften

Anzahl der Geburten

Anzahl an Aborten

Geburtsdatum			
Geschlecht des Kindes			
Entbindungsmodus			
Entbindungsklinik/behandelnder Gynäkologe			
hypertensive Schwangerschaftskomplikation	ja / nein	ja / nein	ja / nein

Symptomatik bei Diagnosestellung:

Oberbauchschmerzen ja / nein

Kopfschmerzen ja / nein

Augenflimmern ja / nein

Ohrensausen ja / nein

Ödeme ja / nein

Krampfanfall ja / nein

Sonstige

pathologische Befunde:

Blutdruck
Blutuntersuchung
Urinuntersuchung
sonstige

Zuordnung zu den einzelnen Krankheitsbildern an Hand der erhobenen oder vorliegenden Daten:

- schwere Präeklampsie
- Eklampsie
- HELLP-Syndrom

9.2 Einverständniserklärung

Name,

Vorname

Geburtsdatum

Anschrift

Telefon

Hiermit erkläre ich mich nach mündlicher eingehender Information durch die/den aufklärende(r) Ärztin/Arzt bereit, an der Studie zur Untersuchung von erblichen Grundlagen bei schwangerschaftsinduzierten hypertensiven Erkrankungen wie Gestose oder HELLP-Syndrom teilzunehmen.

Ich bin damit einverstanden, dass mit Hilfe meines Erbmaterials auch zu einem späteren Zeitpunkt weitere Gene im Rahmen der Erforschung dieser Krankheitsbilder untersucht werden. Mit der Blutentnahme und den damit verbundenen biochemischen und molekulargenetischen Untersuchungen bin ich einverstanden.

Ich bin darüber informiert worden, dass die im Rahmen der Studie erhobenen Daten anonym gespeichert und ausgewertet werden und ausschließlich wissenschaftlichen Zwecken dienen, jedoch auf meinen Wunsch hin, meine persönlichen Ergebnisse mir durch die Studienleitung mitgeteilt werden. Eine Weitergabe an unbeteiligte Dritte ist ausgeschlossen.

Ich bin desweiteren darüber informiert worden, dass ich zu jedem Zeitpunkt von den biochemischen und molekulargenetischen Untersuchungen zurücktreten kann und in diesem Fall meine asservierten Proben vernichtet werden.

Ich erlaube den ärztlichen Mitarbeitern der Frauenklinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München meine Krankenunterlagen für obige Studie einzusehen und entbinde für diesen Zweck die behandelnden Ärzte von ihrer Schweigepflicht.

Ort, Datum

Unterschrift der Teilnehmerin

Ort, Datum

Unterschrift der/des aufklärenden Ärztin/Arztes

9.3 Abbildungsverzeichnis

Abb.1	Angeborene Defekte, die den antikoagulatorischen Mechanismus des Protein C beeinflussen	Seite 7
Abb.2	Schematische Darstellung des Methionin-Stoffwechsels	Seite 9
Abb.3	Altersverteilung der Patientinnen bei Ersterkrankung	Seite 16
Abb.4	Anzahl der Schwangerschaften mit hypertensiven Schwangerschaftskomplikationen	Seite 17
Abb.5	Von hypertensiven Komplikationen betroffene Schwangerschaft	Seite 17
Abb.6	Zeitpunkt der Entbindung	Seite 19
Abb.7	Art der hypertensiven Schwangerschaftskomplikation bei Ersterkrankung	Seite 19
Abb.8	Genetische Analyse für die Faktor-V-Leiden Mutation	Seite 20
Abb.9	Genetische Analyse für die Prothrombin-G20210A Mutation	Seite 21
Abb.10	Genetische Analyse für die MTHFR-C677T Mutation	Seite 22
Abb.11	Zusammenfassung der Ergebnisse der genetischen Analysen	Seite 23

9.4 Abkürzungsverzeichnis

A	Arteria
APC	aktiviertes Protein C
Arg	Arginin
bp	Basenpaare
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
F	Faktor
Hind III	Endonuklease aus Haemophilus influenzae Rd
Hinf I	Endonuklease aus Haemophilus influenzae Rf
Mnl I	Endonuklease aus Moraxella nonliquefaciens
MTHFR	Methylentetrahydrofolatreduktase
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
TNF α	Tumor Nekrose Faktor Alpha

Danksagung

Mein Dank gilt zuerst Herrn Prof. Dr. M. Kolben für die Überlassung des Themas und die geduldige und aufmunternde Begleitung während der vergangenen Jahre. Seine Vorschläge haben ganz wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Weiter danke ich Frau Dr. A. Artmann für die Mitbetreuung der Arbeit. Sie hat mit Rat und Mitwirkung bei der Datenerhebung und deren Auswertung einen wichtigen Beitrag zum erfolgreichen Abschluss der Studie geleistet.

Auch Herrn Dr. G. Mößmer vom Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie einen herzlichen Dank für die Zusammenarbeit im Rahmen der genetischen Analysen.

Besonderer Dank gilt meinem Ehemann für seine Unterstützung: von der Kinderbetreuung über die Hilfe bei der statistischen Auswertung bis zu Korrektur und Layout.

Frau Dr. G. Spielmann sei herzlich für die Einarbeitung in die neuen Rechtschreibreform und die geduldige Korrektur der Arbeit gedankt.

Zuletzt möchte ich allen Patientinnen danken, die trotz ihrer oft schwierigen Situation zum Gespräch und zur Teilnahme an der Studie bereit waren. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Katja Maren Seemund
Geburtsdatum : 16.08.1971
Geburtsort : München
Familienstand : verheiratet, eine Tochter
Konfession : evangelisch

Schul- und Berufsausbildung:

09/1978 - 07/1982 Besuch der Grund- und Hauptschule Ottobrunn
09/1982 - 07/1987 Besuch des Gymnasiums Ottobrunn
09/1987 - 07/1989 Besuch des Heinrich-Heine Gymnasiums München, Abgang nach der Mittleren Reife
08/1989 - 08/1990 Stipendiatsaufenthalt in St. George, Utah, U.S.A., High-School- und College-Abschluß
09/1990 - 07/1992 Wirtschaftliche Fachoberschule München, Abschluss: Fachhochschulreife
09/1992 - 08/1994 Ausbildung zur medizinisch-technischen Radiologieassistentin
09/1994 - 05/1995 Berufsoberschule München, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung:

10/1995 - 09/1998 Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg
09/1998 Ärztliche Vorprüfung
10/1998 - 05/2003 Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München
04/2000 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/2001 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
04/2002 – 03/2003 Praktisches Jahr in der Abteilung für psychosomatische Medizin und Psychotherapie des Klinikums rechts der Isar, der chirurgischen Abteilung des Krankenhauses der Barmherzigen Brüder und der II. medizinischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar in München
05/2003 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung