Aus der Medizinischen Klinik II
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Schunkert

Studie zur Thrombozytenaktivierung durch psychisch induzierten Stress bei Patienten mit vermehrten Ängsten

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Annekatrin Asja Ripke
aus Bremen
Lübeck 2006

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Günther Jantschek

2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Martin Driessen

Tag der mündlichen Prüfung: 23.04.2007

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 23.04.2007

INHALTSVERZEICHNIS

TABELLENVERZEICHNIS....6

ABBILDUNGSVERZEICHNIS....6

1 EINLEITUNG....10

1.1 Klinische Definition von Stress und Angst und ihre Bedeutung im Alltagsgeschehen....14

1.1.1 Der Begriff Stress....14

1.1.2 Der Begriff Angst....14

1.1.3 Zusammenhang zwischen Stress und Angst....16

1.2 Klassifikation von Angststörungen....16

1.2.1 Phobische Störungen (ICD-10, F40)....17

1.2.2 Sonstige Angststörungen (ICD-10, F41)....18

1.2.3 Somatoforme Störungen (ICD-10, F45)....19

1.3 Thrombozyten....20

1.3.1 Morphologie und Ultrastruktur von Thrombozyten....20

1.3.2 Thrombozytenaktivierung....22

1.3.3 Thrombozytenmembranproteine....25

1.3.4 Plättchenfaktor 4 (PF 4)....28

1.3.5 ß-Thromboglobulin (ß-TG)....29

1.4 Fragestellung....29

2 MATERIAL UND METHODEN....30

2.1 Patienten....30

2.1.1 Einschlusskriterien....30

2.1.2 Ausschlusskriterien....30

2.2 Versuchsaufbau und Ablauf des mentalen Stressversuches....31

2.2.1 Vorgespräch und Aufklärung....31

2.2.2 Fragebögen....31

2.2.3 Standardisierte psychische Stresssituation....35

2.3 Blutentnahme....38

2.4 Durchflusszytometrie....39

2.4.1 Material der Durchflusszytometrie....39

2.4.2 Methode der Durchflusszytometrie....41
2.4.3 Präparationsschema....43
2.4.4 Durchflusszytometrische Messung der Proben....45
2.5 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)....49
2.5.1 Material des ELISA....49
2.5.2 Methode des ELISA....49
2.5.3 Messung der Proben....50
2.6 Statistische Auswertung der Messergebnisse....51

3 ERGEBNISSE....52

3.1 Vergleichende soziodemographische Auswertung der beiden Probandenkollektive....52
3.2 Auswertung der Fragebögen....52
3.2.1 State-Trait-Angstinventar (STAI)....53
3.2.2 Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)....54
3.2.3 Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)....55
3.3 Auswertung der Kreislaufparameter....56
3.3.1 Mittlerer arterieller Blutdruck....56
3.3.2 Pulsfrequenz....58
3.4 Auswertung der Thrombozytenmembranproteine....59
3.4.1 Auswertung des Thrombozytenmarkers CD 62....59
3.4.2 Auswertung CD 63....60
3.4.3 Auswertung Thrombospondin....61
3.5 Auswertung der Granulainhaltstoffe....61
3.5.1 Ergebnisse der Plättchenfaktor 4-Messung....61
3.5.2 Ergebnisse der β-Thromboglobulin-Messung....62

4 DISKUSSION....64

4.1 Betrachtung der Methodik....64
4.1.1 Versuchsablauf....64
4.1.2 Durchflusszytometrische Labormethodik....65

4.2 Diskussion der Ergebnisse....66
4.2.1 Patientenkollektiv- Selbsteinschätzung durch STAI und AKV....66
4.2.2 Thrombozytenmembranproteine....68
4.2.3 Granulainhaltstoffe....70
4.3 Beantwortung der gestellten Fragen....73

5 ZUSAMMENFASSUNG....74

6 LITERATURVERZEICHNIS....76

7 ANHANG....85

7.1 Aufklärungsbogen....85
7.2 Einwilligungserklärung....86
7.3 Instruktionsbögen....87
7.3.1 Instruktionsbogen 1....87
7.3.2 Instruktionsbogen 2....87
7.3.3 Instruktionsbogen 3....88
7.4 Versuchsprotokoll....89
7.5 Fragebögen....91
7.5.1 Probandenangaben- soziodemographische Daten....91
7.5.2 State-Trait-Angstinventar (STAI)....93
7.5.3 Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)....95
7.5.4 Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)....97

8 DANKSAGUNG....100

9 ERKLÄRUNG....101

10 LEBENSLAUF....102

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Auflistung der thrombozytären Speicherstoffe geordnet nach ihrem Speicherort.....21

Tabelle 2: Schema der Antikörperzugabe zu plättchenreichem Plasma.....44

Tabelle 3: Thrombozytenmarker CD 62.....60

Tabelle 4: Thrombozytenmarker CD 63.....60

Tabelle 5: Thrombozytenmarker Thrombospondin.....61

Tabelle 6: Plättchenfaktor 4.....62

Tabelle 7: ß-Thromboglobulin.....62

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schema der Oberflächenproteine eines aktivierten Thrombozyten. Abk: CD:Cluster of Differentiation, GP:Glykoproteinkomplex, TSP: Thrombospondin.....25

Abbildung 2: Versuchsablauf.....36

Abbildung 3: Dot-Plot:Thrombozytenmessung.....47

Abbildung 4: Histogramm: Ansatz ohne spezifische Antikörper.....48

Abbildung 5: Histogramm: Ansatz mit CD 41-FITC Marker.....48

Abbildung 6: Histogramm: Ansatz mit Thrombospondin als Marker..... 49

Abbildung 7: Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern.....55

Abbildung 8: Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAD) 57

Abbildung 9: Pulsfrequenz.....58

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACQ	Agoraphobic Cognition Questionnaire (Fragebogen zu angstbezogenen Kognitionen)
AKV	Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BSKE	Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern
BSQ	Body Sensation Questionnaire (Fragebogen zur Einschätzung der Angst vor körperlichen Symptomen und der Beeinträchtigung durch Körperempfindungen)
ß-TG	Beta-Thromboglobulin
CD	Cluster of Differentiation (Differenzierungs-Antigen)
DTS	Dense Tubular System (dichtes kanalikuläres System)
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor (vom Endothel freigesetzter Relaxationsfaktor)
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (heterogener Enzym-Immunoassay)
FACScan	Fluorescence Activated Cell Scanner (Fluoreszens-aktivierter Zellenscanner)
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FSC	Forward Light Scatter (Vorwärtsstreulicht)
GMP	Granulamembranprotein
GP	Glykoprotein
ICD	International Classification of Diseases (Internationale Klassifikation der Krankheiten)
MAD	Mittlerer Arterieller Blutdruck
MI	Mobility Invertory (Mobilitätsinventar)
NO	Stickoxid
p	relative Wahrscheinlichkeit

PADGEM	Platelet-Activation-Dependent-Granule-External-Membrane Protein (Zelladhäsionsmolekül auf Thrombozyten und Endothelzellen)
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PAI	Plasminogenaktivator-Inhibitor
PDGF	Platelet Derived Growth Factor (Plättchenwachstumsfaktor)
PE	Phycoerythrin
PF 4	Plättchenfaktor 4
SCS	Surface Connected System (offenes kanalikuläres System)
SPSS	Statistical Product and Service Solutions (statistische Produkt- und Dienstleistungen)
SSC	Sideward Scatter (Seitwärtsstreulicht)
STAI	State-Trait-Angstinventar (Zustand-Eigenschaft-Angstinventar)
TGF-ß	Transforming Growth Factor Beta (umwandelnder Wachstumsfaktor beta)
TSP	Thrombospondin
vWF	von Willebrand Faktor

1 EINLEITUNG

Mit Stress und Ängsten adäquat umzugehen, ist eine Anforderung des Lebens, die täglich bewältigt werden muss. Stress als psychosozialer Risikofaktor ist in Verbindung mit den körperlichen Risikofaktoren ein wichtiger Begriff bei Herz- und Kreislauferkrankungen geworden, welche in der westlichen Welt vor den malignen Erkrankungen die häufigste Todesursache darstellen. Fragen der Lebensführung, Persönlichkeitseinstellung und die Position der Menschen im beruflichen und sozialen Umfeld stellen sich für den Kreislauf und seine physiologische Regulation als relevant dar. Die klassischen psychosomatischen Fragestellungen, die auf funktionelle Störungen gerichtet waren, haben sich damit zunehmend erweitert. So sind unter anderem Bluthochdruck, Atherosklerose und Angina pectoris nicht mehr nur mit körperlichen, sondern in zunehmendem Maße auch mit psychosomatischen Fragestellungen und Therapieansätzen verbunden (Hemingway und Marmot, 1999). An Herz-Kreislauferkrankungen sind zu einem hohen Prozentsatz die bisher bekannten Risikofaktoren: Bluthochdruck, Fettstoffwechselstörung, Rauchen, Übergewicht und Diabetes beteiligt (Rozanski et al., 1999, Sheps et al., 2002, Strike und Streptoe, 2004).

Auf gerinnugsphysiologischer Ebene zeigt sich bei akuten Ereignissen eine vermehrte Aktivität der Blutgerinnung. Dort ansetzend untersucht die vorliegende Arbeit die Auswirkungen von Stress und Angst auf das menschliche Gerinnungssystem anhand der Thrombozytenaktivierung bei Patienten mit vermehrten Ängsten. Dass Stress eine Aktivierung des Gerinnungssystems verursacht, ist in mehreren Studien untersucht und belegt worden (Patterson et al., 1995; Känel et al., 2001), teils auch mit Schwerpunkt auf die Thrombozyten-diagnostik. Häufig ist hierbei jedoch Stress mit körperlichem, physischem Stress gleichgesetzt worden. Im Gegensatz dazu sollen in dieser Arbeit die Auswirkungen von rein mentalem, psychischem Stress untersucht werden und der Faktor, der vorbestehenden Angst betrachtet werden.

Grundlage ist eine erste Pilotstudie der Medizinischen Klinik II/ Bereich Psychosomatik und des hämatologischen Labors der Universität zu Lübeck, in der Zusammenhänge zwischen akuten Stressereignissen und der Aktivierung des menschlichen Gerinnungssystems bei gesunden Probanden unter

standardisierten Versuchsbedingungen gefunden wurden (Gräntzdörffer, Med. Diss., in Vorbereitung; Mess, Med. Diss., in Vorbereitung). In dieser Pilotstudie ergab sich darüber hinaus ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Ängstlichkeit der Probanden und dem Ausmaß der Aktivierung der Blutgerinnung.
Auf dieser Basis werden in der vorliegenden Studie Menschen mit vermehrten Ängsten, klassifiziert durch das State-Trait-Angstinventar (STAI) (siehe auch Abkürzungsverzeichnis S. 7-8) von Laux et al. (1981), die aufgrund einer Angsterkrankung oder einer Somatisierungsstörung mit körperbezogenen Ängsten in der Klinik für Psychosomatik stationär behandelt werden, einer standardisierten Stresssituation ausgesetzt.
Zur Einführung sollen in den folgenden Abschnitten zunächst einige der Studien näher vorgestellt werden, die sich mit Angst, Angststörungen und kardiovaskulären Folgeerkrankungen beschäftigt haben. Anschließend werden Studien vorgestellt, die Einflüsse psychologischer Faktoren auf die Blutgerinnung darstellen. Die ersten Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Angststörungen und kardiovaskulären Erkrankungen wurden durch eine erhöhte Mortalität psychiatrischer Patienten mit Angststörungen gezeigt (Coryell et al., 1982). Anschließend konnten Haines et al. (1987) mit der Northwick Park heart-Studie ein erhöhtes Risiko, an einer ischämischen Herzkrankheit zu versterben, aufzeigen, sobald gleichzeitig Symptome phobischer Angst vorlagen.
Kawachi et al. (1994) untersuchten das Auftreten kardialer Erkrankungen über einen Zeitraum von zwei Jahren an einem Kollektiv von nahezu 34.000 Probanden ohne kardiovaskuläre Vorerkrankungen. Die Krankheitsfälle wurden im Zusammenhang mit von Probanden wahrgenommenen Symptomen phobischer Angst ausgewertet und belegen, dass eine Assoziation zwischen einer erhöhten phobischen Angst und einem akutem, fatalen Myokardinfarkt besteht. Zusammenhänge zwischen dem vermehrten Auftreten koronarer Herzkrankheiten und bestehenden Panikstörungen konnten Weissmann et al. (1990) nachweisen, ebenso Kubzansky et al. (1997) den Zusammenhang zwischen einer koronaren Herzkrankheit und dem Gefühl der Besorgtheit.

Herz und Kreislauf sind in jede Lebenstätigkeit mit einbezogen, ohne dass dies normalerweise wahrgenommen wird. Ein Anstieg des Blutdrucks und der Herzfrequenz kann während psychischer Stressbelastung beobachtet werden

(Sloan et al., 1996) und führt dann teils zu einer bewussten Wahrnehmung. Der Blutfluss und die mit damit zusammenhängenden vielfältigen Interaktionen der Blutbestandteile werden vom Menschen ebenso wenig wahrgenommen, wie der Beginn einer Herz-Kreislauferkrankung. Besonders den Thrombozyten kommt eine große Bedeutung bei der Entstehung der klassischen thrombotischen Erkrankungen, wie Angina pectoris, Herzinfarkt und Schlaganfall zu (Grau et al., 1998; Zeller et al., 1999). Dabei wirken sie nicht erst als der zentrale Faktor der Thrombusentstehung bei fortgeschrittener Atherosklerose, sondern bereits in der Einleitung des frühesten Stadiums der Atherosklerose durch die Interaktion mit Monozyten und Endothelzellen (Maree und Fitzgerald, 2004). Die Beteiligung der Thrombozyten geht in diesen Situationen mit ihrer erhöhten Aktivität einher, die in mehreren Studien nachgewiesen werden konnte. So zeigten Fitzgerald et al. bereits 1986, während eines persistierenden instabilen Angina pectoris-Anfalls, eine erhöhte Thromboxankonzentration im Plasma, die durch Sekretion aus aktivierten Thrombozyten zustande gekommen sein muss. Schultheiß et al. fanden (1994) einen erhöhten Anteil aktivierter Thrombozyten bei Patienten mit vor wenigen Stunden abgelaufenem Myokardinfarkt. Dazu wurden innerhalb von 48 Stunden nach Infarktgeschehen die Thrombozytenoberflächenmarker CD (Cluster of Differentiation) 62 und CD 63 durchflusszytometrisch bestimmt, wobei sich ein signifikanter Anstieg nachweisen ließ.

Malkoff et al. (1993) testen die Auswirkung eines 21-minütigen frustrierenden Computertestes (Stroop-color-Test) als mentalen Stressor an 40 gesunden Männern. Innerhalb der Stressgruppe konnte ein Anstieg der Herzfrequenz und des Blutdruckes ermittelt werden. Als Marker der Thrombozytenaktivierung wurde aus den elektronendichten Granula freigesetztes ATP ermittelt, welches in der Stressgruppe signifikant anstieg.

Auch Patterson et al. (1994) setzten den Stroop-color-Test ein. Sie versuchten die Auswirkung diverser Stressmomente auf das Gerinnungssystem zu erfassen. Neben dem aktiv durchzuführenden Computertest wurde die Auswirkung des passiven Anschauens eines chirurgischen Films erfasst. Beide Vorgänge lösten einen erhöhten Blutdruck mit erhöhter Pulsfrequenz und ansteigenden PF 4-Werten aus. In einer 1995 veröffentlichten Folgestudie wurden die Einflüsse mentalen Stresses (mathematischer Test) und physischen Stresses miteinander verglichen: Dabei zeigte sich im Bezug auf den mathematischen Test, dass

sowohl PF 4, als auch ß-TG unter dem Moment des akuten Stresses anstiegen und unter anschließender Entspannungssituation wieder auf die Ausgangswerte abfielen (Patterson et al., 1995). Haft und Arkel (1976) untersuchten die Auswirkung psychischen Stresses anhand von 16 Hausärzten, die Patientenfälle vor einer großen Runde von Zuhörern präsentieren mussten. Direkt vor und nach der Rede, sowie 7 Tage später wurden die ADP-Spiegel, als Thrombozyten-inhaltsstoffe bestimmt. Bei 15 Teilnehmern war während der Rede der ADP-Spiegel vermindert und zeigte damit eine erniedrigte Plättchenggregabilität auf.

Aufgrund eines Großteils widersprüchlicher Ergebnisse haben Känel et al. (2001) eine Metaanalyse durchgeführt, die 86 Studien aus den Jahren 1966 bis 2001 auswertet. Zusammenfassend zeigen sie auf, dass die Mehrzahl der Studien sowohl eine Verstärkung der Blutgerinnung, als auch eine Verstärkung der Fibrinolyse bei gesunden Menschen ohne Risikofaktoren auf den kurzzeitigen Trigger mentaler Stress aufweist. Als gerinnungsaktivierende Parameter wurden erhöhte Blutgerinnungsfaktoren, wie z.B. Fibrinogen und von-Willebrandfaktor (vWF) bestimmt, als fibriolytische Parameter z.B. D-Dimere. Kommt ein Risikofaktor wie eine kardiovaskuläre Erkrankung hinzu, überwiegt in der Mehrzahl der Studien das gerinnungsförderne gegenüber dem fibrinolytischen System. Die genauen Interaktionen sind dabei noch nicht bekannt.

1.1 Klinische Definition von Stress und Angst und ihre Bedeutung im Alltagsgeschehen

1.1.1 Der Begriff Stress

Obwohl der Begriff Stress längst zu einem viel gebrauchten Schlagwort geworden ist, gibt es keine eindeutige, fest eingrenzende Definition. Das Wort Stress kommt aus dem Englischen und bedeutet ursprünglich Anspannung, Verzerrung, Verbiegung, besonders auf dem Gebiet der Materialprüfung, etwa von Glas und Metallen. In die Biologie wurde der Begriff 1950 von dem ungarisch-kanadischen Mediziner Hans Selye eingeführt (Selye, 1974). Dort meint der Begriff etwas sehr ähnliches, nämlich die Belastungen, Anstrengungen und Ärgernisse, denen ein Lebewesen täglich durch Lärm, Hetze, Frustrationen, Schmerz, Existenzangst und vielem anderem ausgesetzt ist (Selye, 1974). Sieht man sich diesen Ursprung des Begriffes an, der im allgemeinen Sprachgebrauch seit 1970 zu finden ist, stellt man fest, dass ihm eindeutig etwas Negatives anhaftet. Dieser negative Stress wird auch als Disstress bezeichnet (Vester, 2000). Er ist ein Muster spezifischer und unspezifischer Reaktionen eines Organismus auf Reizereignisse, die sein Gleichgewicht stören und seine Fähigkeit zur Bewältigung strapazieren oder überschreiten. Schädigende Faktoren, Stressfaktoren oder Stressoren genannt, können physikalischer (Kälte, Hitze, Lärm), physischer (körperliche Belastung), chemischer (Schadstoffe, Drogen), medizinischer (Infektionen, Verletzung), oder psychischer (Isolation, Prüfungen, Leistungsdruck, emotionale Belastung) Art sein. Positiven Stress, der sich anregend und leistungssteigernd auf ein Lebewesen auswirkt, bezeichnet man als Eustress. Die Auslegung und Wahrnehmung, ob Stress als Dis- oder Eustress erlebt wird, ist individuell sehr unterschiedlich. Zusammengefasst lässt sich Stress als das allgemeine Anspannungsniveau bezeichnen.

1.1.2 Der Begriff Angst

Angst kann bei fast allen Lebewesen nachweisbar auftreten und gehört damit zu den grundlegendsten Gefühlen. Beim Menschen besteht Angst aus einer Kombination von drei Bestandteilen: der körperlichen Komponente, der

Gedankenkomponente und der Verhaltenskomponente. Diese drei hängen im Allgemeinen zusammen, müssen aber nicht immer gleichzeitig oder gleich stark auftreten.

Die körperliche Komponente wird durch Aktivierung des autonomen Nervensystems hervorgerufen. Über einen erhöhten Tonus des sympathischen Nervensystems kommt es im Nebennierenmark zu einer erhöhten Ausschüttung der Hormone Adrenalin und Noradrenalin. Die wohl wichtigste und unmittelbarste Wirkung ist die Bereitstellung von Energie durch Freisetzung von Blutzucker aus den Glykogenreserven der Leber, durch die es zu einer zügigen Leistungssteigerung im Körper kommt. Im Herz-Kreislaufsystem erhöhen sich die Herzfrequenz und das Schlagvolumen und eine Verbesserung der Koronardurchblutung wird durch Koronardilatation sichergestellt. Darüber hinaus dilatiert die Bronchialmuskulatur, um eine verbesserte Lungenbelüftung zu gewährleisten. Es bestehen eine Reihe weiterer Reaktionen, die dafür sorgen, dass der Organismus alle seine ihm zur Verfügung stehenden Abwehrmechanismen auf eine möglicherweise bevorstehende Flucht oder einen Kampf vorbereitet. Dies ist eine biologisch sinnvolle Reaktion mit hohem Überlebensvorteil, die sich stammesgeschichtlich entwickelt hat und die in vollem Umfang bei plötzlicher oder kurz andauernder Angst auftritt. Die körperliche Komponente ist durch labortechnische Parameter kontrollierbar.

Die Gedankenkomponente betrifft Gedanken, Überzeugungen und Erwartungen, die in Angst- oder Präangstsituationen auftreten. Da Menschen in starkem Maße von ihrer Art über Dinge zu denken beeinflusst werden, kann durch die Gedankenkomponente ungerechtfertigt Angst ausgelöst werden, wenn ein oder mehrere Symptome des Körpers falsch interpretiert oder überbewertet werden. Die Gedankenkomponente ist von außen weder wahrnehmbar, noch lässt sie sich durch labortechnische Parameter nachweisen.

Dahingegen bezeichnet **die Verhaltenskomponente** das Verhalten, welches für andere sichtbar ist. Das Verhalten eines Menschen kann auf vielfältige Art und Weise von der Angst beeinflusst werden. So können Verhaltensweisen beeinträchtigt werden, die Konzentration und Geschicklichkeit erfordern. Es kann zur Flucht aus bestimmten Situationen oder zur kompletten Vermeidung dieser kommen. Darüber hinaus kann die Verhaltenskomponente eine Art Überlaufventil sein, die sich in Verhaltensweisen, wie mit dem Fuß wippen oder auf und ab

laufen, äußert, wenn eine Kampf- oder Fluchtreaktion rational nicht angemessen erscheint. Gegenüber der definitionsgemäß unspezifischen Angst, bezeichnet der Begriff Furcht die Angst vor einer speziellen Situation oder einem speziellen Objekt.

1.1.3 Zusammenhang zwischen Stress und Angst

Bei Personen mit hohem Anspannungsniveau ist die Schwelle zur Auslösung von Angst und/ oder Angstanfällen nicht weit entfernt. Manchmal reicht eine alltägliche Stresssituation, um einen Angstanfall auszulösen. Bei Menschen mit niedrigem Anspannungsniveau wird dementsprechend ein höherer Stressor notwendig sein, um Angst auszulösen. Personen, die mehrmals Angst erlebt haben, entwickeln oft eine anhaltende Sorge, dieser Angstzustand könnte wieder auftreten und begeben sich damit auf ein höheres Anspannungsniveau. Ein gewisses, kurzfristiges Maß an Angst, insbesondere in unbekannten Situationen, ist auch in unserer heutigen Zeit notwendig. Sie erhöht die Aufmerksamkeit und ermöglicht somit eine bessere Anpassung an die Situation.

1.2 Klassifikation von Angststörungen

Angststörungen werden nach ICD-10, Kapitel V (F) unter dem Überbegriff der neurotischen, Belastungs- und somatoformen Störungen eingeteilt (Dilling et al., 1999). Es sind psychische Störungen, bei denen die Furcht vor einem Objekt oder einer Situation oder unspezifische Ängste im Vordergrund stehen. Einen Großteil nehmen die **phobischen Störungen (ICD-10, F40)** ein, zu denen die Agoraphobie ohne und mit Panikstörung zählt, sowie die sozialen Phobien, spezifische (isolierte) Phobien, sonstige phobische Störungen und nicht näher bezeichnete phobische Störungen. Den zweiten Abschnitt nehmen die **sonstigen Angststörungen (ICD-10, F41)** ein, zu denen die Panikstörung (episodisch paroxysmale Angst), generalisierte Angststörung, Angst und depressive Störung (gemischt), sonstige gemischte Angststörungen, sonstige näher bezeichnete Angststörungen und nicht näher bezeichnete Angststörungen gehören. Somatisierungsstörungen werden unter dem Überbegriff der **somatoformen Störung (ICD-10, F45)** im fünften Abschnitt eingeteilt. Sie umfassen Somatisierungsstörungen, undifferenzierte und hypochondrische Somatisierungs-

störungen, sowie somatoforme autonome Funktionsstörungen der verschiedenen Organsysteme.

1.2.1 Phobische Störungen (ICD-10, F40)

In dieser Gruppe von Störungen wird Angst ausschließlich oder überwiegend durch eindeutig definierte, im Allgemeinen ungefährliche Situationen oder Objekte in der Umgebung des Patienten hervorgerufen. Diese Situationen oder Objekte werden charakteristischerweise gemieden oder voller Angst ertragen. Phobische Angst reicht von leichtem Unbehagen bis hin zu panischer Angst. Befürchtungen des Patienten können sich auf Einzelsymptome wie Herzklopfen oder Schwächegefühl beziehen und treten häufig zusammen auf mit sekundären Ängsten vor dem Sterben, Kontrollverlust oder dem Gefühl, wahnsinnig zu werden. Die Angst wird nicht durch die Erkenntnis gemildert, dass andere Menschen die fragliche Situation nicht als gefährlich oder bedrohlich betrachten. Allein die Vorstellung, dass die phobische Situation eintreten könnte, erzeugt gewöhnlich schon Erwartungsangst.

1.2.1.1Agoraphobie (F40.0)

Der Begriff Agoraphobie bezieht sich auf Ängste vor offenen Plätzen, Ängste vor Menschenmengen und auf die Schwierigkeit, sich wieder sofort und leicht an einen sicheren Ort, im Allgemeinen nach Hause, zurückziehen zu können. Der Terminus beschreibt also eine Angst, das eigene Haus zu verlassen, Geschäfte zu betreten, sich auf öffentliche Plätze zu begeben oder alleine in Zügen, Bussen oder Flugzeugen zu reisen. Je nach Schweregrad der Angst und Ausmaß des Vermeidungsverhaltens ist diese Phobie sehr einschränkend.

1.2.1.2soziale Phobien (F40.1)

Soziale Phobien zentrieren sich um die Furcht vor prüfender Betrachtung durch andere Menschen in verhältnismäßig kleinen Gruppen und führen schließlich dazu, dass soziale Situationen vermieden werden.

1.2.1.3spezifische (isolierte) Phobien (F40.2)

Hierbei handelt es sich um Phobien, die auf ganz spezifische Situationen beschränkt sind wie auf die Nähe bestimmter Tiere, Höhen, Donner, Dunkelheit,

geschlossene Räume und vieles mehr. Obwohl die auslösende Situation eng begrenzt ist, kann sie wie bei Agoraphobie oder einer sozialen Phobie Panik auslösen.

1.2.2 Sonstige Angststörungen (ICD-10, F41)

Das Hauptsymptom dieser Störung stellt eine nicht auf bestimmte Umgebungssituationen begrenzte Angst dar.

1.2.2.1 Panikstörung (episodisch paroxysmale Angst) (F41.0)

Das wesentliche Kennzeichen sind wiederkehrende schwere Angstattacken (Panik), die sich nicht auf spezifische Situationen oder besondere Umstände beschränken und deshalb auch nicht vorhersehbar sind. Wie bei anderen Angsterkrankungen variieren die Symptome von Person zu Person, typisch ist aber der plötzliche Beginn mit Herzklopfen, Brustschmerz, Erstickungsgefühlen, Schwindel und Entfremdungsgefühlen. Fast stets entsteht dann sekundär auch eine Furcht zu sterben, die Angst vor Kontrollverlust oder eine Angst, wahnsinnig zu werden. Die einzelnen Anfälle dauern meistens nur Minuten, manchmal aber auch länger. Patienten erleben in einer Panikattacke häufig ein Crescendo der Angst und der vegetativen Symptome, was zu einem meist fluchtartigen Verlassen des Ortes führt. In Zukunft wird der Patient möglicherweise diese Situation meiden, da einer Panikattacke meist die ständige Furcht vor einer erneuten Attacke folgt.

1.2.2.2 Generalisierte Angststörung (F41.1)

Das wesentliche Symptom ist eine generalisierte und anhaltende Angst, die an den meisten Tagen, mindestens mehrere Wochen, meist mehrere Monate lang, vorhanden ist. Diese Angst ist nicht auf bestimmte Situationen in der Umgebung beschränkt, sondern sie ist frei flottierend. Die hauptsächlichen Symptome sind sehr unterschiedlich, aber Beschwerden wie ständige Nervosität, Zittern, Muskelspannung, Schwitzen, Benommenheit, Herzklopfen, Schwindelgefühle oder Oberbauchbeschwerden gehören zu diesem Bild. Häufig werden Befürchtungen geäußert, der Patient selbst oder ein Angehöriger könnten demnächst erkranken oder verunglücken, sowie eine große Anzahl anderer Sorgen und Vorahnungen. Diese Störung findet sich oft im Zusammenhang mit langandauernder Belastung durch äußere Umstände.

1.2.3 Somatoforme Störungen (ICD-10, F45)

Das Charakteristikum der somatoformen Störungen ist die wiederholte Darbietung körperlicher Symptome in Verbindung mit hartnäckigen Forderungen nach medizinischer Untersuchung trotz wiederholter negativer Ergebnisse und Versicherung der Ärzte, dass die Symptome nicht körperlich begründbar sind. Bei Vorhandensein von körperlichen Symptomen erklären diese nicht das Ausmaß des Leidens und die innerliche Beteiligung des Patienten.

1.2.3.1 Somatisierungsstörung (F45.0)

Charakteristisch sind multiple, wiederholt auftretende und häufig wechselnde körperliche Symptome, die über einen Zeitraum von zwei Jahren bestehen und für die keine ausreichende somatische Erklärung gefunden werden kann. Die Symptome können sich auf jedes Körperteil oder jedes Körpersystem beziehen. Zu den häufigsten gehören gastrointestinale Beschwerden und abnorme Hautempfindungen. Gehäuft kommen deutliche Angst und Depression als Folge vor.

1.2.3.2 Hypochondrische Störung (F45.2)

Vorherrschendes Kennzeichen ist die beharrliche Beschäftigung mit der Möglichkeit, an einer oder mehreren schweren, fortschreitenden körperlichen Krankheiten zu leiden.

1.2.3.3 Somatoforme autonome Funktionsstörung (F45.3)

Die Symptome werden vom Patienten so geschildert, als beruhten sie auf der körperlichen Krankheit eines Systems oder Organs, das weitgehend vegetativ innerviert und kontrolliert wird. Die häufigsten und auffallensten Beispiele beziehen sich auf das kardiovaskuläre System (Herzneurose), auf das gastrointestinale (psychogenes Colon irritabile, nervöser Durchfall) und das respiratorische System (psychogene Hyperventilation und Husten).

1.3 Thrombozyten

1.3.1 Morphologie und Ultrastruktur von Thrombozyten

Thrombozyten sind kernlose Abschnürungen des Zytoplasmas von Megakaryozyten des Knochenmarks (Mustard et al, 1972). Im Ruhezustand besitzen sie eine diskoide Form mit einem Durchmesser von 2-3,5 µm, einer Dicke von 0,5-0,75 µm und einer Oberfläche von ca. 8 µm² (Gawaz, 1999). Sie sind damit die kleinsten korpuskulären Bestandteile des Blutes. Damit ihre physiologische Konzentration von 150.000-400.000/ µl peripheres Blut aufrechterhalten werden kann, bildet das menschliche Knochenmark beim gesunden Menschen etwa zwei bis fünf Millionen Blutplättchen pro Sekunde. Die komplette Lebensdauer eines Thrombozyten beträgt im Durchschnitt zwischen 7 und 10 Tagen, bevor sie durch das retikuloendotheliale System in Leber und Milz entfernt werden (Hofbrand et al., 1997).

Thrombozyten lassen sich hinsichtlich ihrer Morphologie, als auch ihres Reaktionsvermögens zwei Funktionszuständen zuordnen, die durch verschiedene innere und äußere Einflüsse moduliert und gesteuert werden. Zum einen ist dies der ruhende, unstimulierte, zum anderen der aktivierte, bzw. stimulierte Zustand. Beim gesunden Menschen liegen die Thrombozyten normalerweise in dem nicht oder nur geringgradig aktivierten Zustand vor und strömen so ohne Interaktion mit anderen Blutzellen oder dem Gefäßendothel durch den Körper. In diesem Zustand tragen sie eine bestimmte Anzahl transmembranärer Glykoproteine in ihrer Oberfläche, die teils Rezeptorcharakter besitzen (Metzelaar et al., 1993) und im Hinblick auf die Funktion eine wesentliche Rolle spielen. Nach Aktivierung kommt es zu einer Formveränderung mit Ausbildung von Pseudopodien, wodurch die Oberfläche auf bis 13 µm² zunimmt.

Die Zellmembran bildet die Oberfläche der Thrombozyten. Sie stammt vom endoplasmatischen Retikulum der Megakaryozyten ab und besteht in Analogie zu den übrigen Zellen aus einer polarisierten Phospholipidschicht in „bilayer“-Bauweise. Die daran beteiligten Phospholipide sind asymmetrisch nach festem Muster angeordnet. Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung kommt es

zur Umorganisierung der Phospholipidanordnung und damit verbunden zu einer Freisetzung von Substanzen zur Initiierung der Hämostase.

Das formgebende Zytoskelett der Thrombozyten besteht aus einem vorwiegend submembranös lokalisierten Netzwerk aus Mikrotubuli sowie weiteren Strukturproteinen, wie Aktin und Myosin.

In den Thrombozyten befindet sich gleichmäßig im Zytoplasma verteilt das Granulomer. Es umfasst drei thrombozytenspezifische Speichergranula von herausragender Bedeutung: α-Granula, elektronendichte Granula (dense-bodies) und Lysosomen (Scharf, 1997). Die α-Granula sind mit einem Durchmesser von 100-180 nm die größten Thrombozytenorganellen mit vielfältigen Inhaltsstoffen. Im nicht aktivierten Thrombozyten liegen sie zentral, durch Zytoplasma voneinander getrennt. Die elektronendichten Granula zeichnen sich durch ihren elektronendichten Inhalt aus. In den lysosomalen Granula sind saure Hydrolasen gespeichert. Einen Überblick über die Inhaltsstoffe gibt Tabelle 1.

α-Granula	**elektonendichte Granula**	**Lysosomen**
Proteine / Rezeptoren	ATP	saure Hydrolasen
Fibrinogen, Fibronectin	ADP	α-Arabinoside
Thrombospondin, Glykoprotein IIb-IIIa		β-Galactosidase
P-Selectin (CD 62)	Calcium	β-Glucusonidase
von-Willebrand-Faktor	Magnesium	
Cytokin-ähnliche Moleküle		Kollagenase, Elastase
β-Thromboglobulin	Serotonin	
Plättchenfaktor 4		Protein CD 63
Enzyme		
α1-Antitrypsin, α2-Antiplasmin,		
α2-Makroglobulin, C1-Esterase-Inhibitor		
Koagulationsfaktoren		
Faktor V, Faktor IX		
Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 (PAI-1)		
Plasminogen, Protein S		
Wachstumsfaktoren		
Platelet derived growth factor (PDGF)		
Transforming growth factor β (TGF-ß)		

Tabelle 1: Auflistung der thrombozytären Speicherstoffe geordnet nach ihrem Speicherort

Ein weiteres charakteristisches Merkmal der thrombozytären Ultrastruktur ist das Vorkommen zweier verschiedener Membransysteme. Zum einen gibt es ein als offenes kanalikuläres System (SCS, Surface Connected System) bezeichnetes, zum anderen das dichte tubuläre System (DTS, Dense Tubular System).
Das SCS besteht aus geschlängelten Membrankanälen, die mit der Thrombozytenoberfläche verbunden sind. Über dieses Membransystem werden die Inhaltsstoffe aller Granula nach einer Aktivierung des Thrombozyten sezerniert. Außerdem fungiert dieses kanalikuläre System als Membranreservoir bei einem Formwandel der Thrombozyten.
Bei dem DTS handelt es sich um ein Analogon zum endoplasmatischen Retikulum von Megakaryozyten.

1.3.2 Thrombozytenaktivierung

Die Hauptaufgabe der Thrombozyten liegt in der Gewährleistung der primären innerhalb von Sekunden ablaufenden Hämostase im Fall von Gefäßleckagen, bei der es zur Bildung eines Plättchenthrombus kommt.
Diese Bildung läuft in charakteristischen Phasen ab, welche sind: Adhäsion, Formwandel, Degranulation, Aggregation und Retraktion.

1.3.2.1Thrombozytenadhäsion

Den initialen Schritt in der Kaskade der Thrombozytenaktivierung stellt die Kontaktaufnahme zwischen ruhendem Thrombozyten und subendothelialer Läsion dar. Durch diesen Kontakt mit subendothelialen Strukturen kommt es zur Aktivierung und primären Adhäsion von Thrombozyten an das geschädigte Endothel. Der aktivierte Zustand der Thrombozyten kann entweder durch freigelegte Zellmembranstrukturen (Kollagen, Mikrofibrillen) oder durch Thrombozytenagonisten (Thrombin, Adrenalin, ADP, Plättchenaktivierender Faktor, Immunkomplexe) ausgelöst werden.

1.3.2.2Formwandel (shape change, visköse Metamorphose)

Gleichzeitig mit ihrer Aktivierung verlieren die Thrombozyten ihre diskoide Form und bilden Pseudopodien aus. Dies geschieht durch die Aktivierung einer membranständigen Phospholipase C, die über Zwischenschritte zu einer Aktivierung der Myosin- und Aktinelemente im Thrombozyten führt, oder über die

Ausstülpung des offenes kanalikulären Systems. Dieser Formwandel läuft in Sekundenschnelle ab.

1.3.2.3 Thrombozytendegranulation

Die ablaufenden Rezeptorbindungsreaktionen lösen im Thrombozyten eine Reihe ineinander greifende Reaktionen aus, an deren Ende die Degranulation der Granula der Thrombozyten steht. Es kommt zum Granulatransport aus dem Zellinneren an die Peripherie, zur Fusion der Granulamembran mit der äußeren Thrombozytenmembran und damit zur Ausschüttung des Granulainhaltes. Alle Plättchensekretionsprodukte haben grundsätzlich verstärkende Wirkung auf die Plättchenaktivierung: die Inhaltstoffe der α-Granula fördern in erster Linie die Anheftung der Thrombozyten an das Subendothel und die Inhaltsstoffe der elektronendichten Granula die Thrombozytenaggregation. Diese Substanzen (Aktivatoren) wirken über bestimmte Rezeptoren der Thrombozytenmembran, die zwischen Thrombozyteninnerem und –äußerem vermitteln. Durch die Aktivierung der Thrombozyten steigt die Zahl verschiedener Oberflächenrezeptoren wie etwa des Fibrinogenrezeptors GP IIb-IIIa, der sich in erheblicher Zahl in der Membran des offenen kanalikulären Systems befindet. Beim ruhenden Thrombozyten liegt er in einer Anzahl von 45.000-50.000 auf der Oberfläche vor (Georg et al., 1986). Bei Aktivierung nimmt seine Anzahl durch Verlagerung aus dem offenen kanalikulären System und seine Affinität durch Konformationsänderung deutlich zu. Der GPIIb-IIIa-Rezeptor kann eine Vielzahl von unterschiedlichen Matrix- und Plasmaproteinen binden. Der wichtigste Ligand ist dabei das Fibrinogen. Über Bindung mit Fibrinogen an das Thrombospondin des Subendothels sorgt der GPIIb-IIIa-Rezeptor für eine irreversible Thrombozytenverankerung am Ort der Endothelläsion.

Darüber hinaus erscheinen auch Rezeptoren an der Oberflächenmembran, die bei ruhenden Thrombozyten dort nicht exprimiert werden, sondern ausschließlich in den Speicherorganellen vorliegen. Beispielhaft sei das P-Selectin (CD 62) aus den α-Granula genannt, da es in dieser Arbeit durchflusszytometrisch bestimmt wird.

1.3.2.4 Thrombozytenaggregation und Retraktion

Aggregation bezeichnet die Anlagerung weiterer Thrombozyten an die durch Adhäsion gebundenen Thrombozyten in der Läsion. Daran beteiligt sind Thrombozytenagonisten, die von den umgebenden Zellen sezerniert werden.
ADP und Thromboxan A_2 fördern die Bildung reversibler Thromozytenaggregate. Der stärkste Agonist der Plättchenaggregation ist Thrombin, nachfolgen Kollagen. Durch sie vermittelt bilden sich Fibrin-Brücken zwischen den Glykoprotein-rezeptoren IIb-IIIa verschiedener Thrombozyten.
Die reversiblen Aggregate werden so im Zusammenspiel mit plasmatischen Koagulationsfaktoren und in Abhängigkeit des initialen Reizes der Endothelschädigung in irreversible Aggregate überführt.

Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung kommt es ebenfalls zur Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade. Nach der klassischen Kaskadentheorie der Blutgerinnung werden verschiedene Gerinnungsfaktoren sequenziell aktiviert, was zur Bildung des Prothrombinase-Komplexes (FXa/FVa), zur Bildung von aktivem Thrombin und schließlich zur Fibrinpolymerisierung führt. Nach der klassischen Vorstellung werden dabei zwei Aktivierungswege (intrinsisches bzw. extrinsisches System) unterschieden. Diese Unterscheidung spiegelt nur sehr unzureichend die Mechanismen der Blutgerinnung in vivo wieder. Nach heutigen Vorstellungen verläuft die Blutgerinnung nicht über zwei (parallel bzw. konvergent verlaufende) Aktivierungswege, sondern findet als eine zeitliche Abfolge von drei nacheinander folgenden Gerinnungsphasen statt. In der Startphase der Blutgerinnung kommt es durch eine Endothelverletzung zu einer Interaktion von im Blut zirkulierenden aktiven Faktor VII mit dem in der Gefäßwand lokalisierten Gewebsthromboplastin (tissue factor, TF). Der FVII/TF-Komplex führt zur Aktivierung von Faktor X und zur Bildung kleiner Mengen von Thrombin. In der Vorbereitungsphase ist dieses initial gebildete Thrombin in der Lage, die molekularen und zellulären Voraussetzungen zur Bildung großer Mengen von Thrombin zu schaffen. In der anschließenden Propagationsphase findet auf der Oberfläche aktivierter Thrombozyten eine effiziente Bildung von Thrombin statt, die schließlich zur Entstehung eines Thrombus führt (Monroe et al., 2002).

1.3.3 Thrombozytenmembranproteine

Die aktivierten Thrombozyten tragen nach dem Formwandel andere Thrombozytenmembranproteine (Glykoproteine bzw. Glykoproteinrezeptoren) auf ihrer Membran als die nicht aktivierten Thrombozyten. Die im Rahmen dieser Arbeit durchflusszytometrisch mit monoklonalen Antikörpern markierten Thrombozytenmembranproteine sind:

1. das α-Granula-Membranprotein **CD 62**, das auch als P-Selectin, GMP-140 (Granulamembranprotein) oder PADGEM (platelet-activation-dependent-granule-external-membran) bezeichnet wird,
2. das lysosomale Protein mit der internationalen Antigenklassifikation **CD 63** und
3. das **Thrombospondin (TSP)**.

Diese Membranproteine werden von ruhenden Plättchen nicht oder nur in geringem Ausmaß exprimiert. Bei der Aktivierung der Thrombozyten kommt es jedoch zu einer verstärkten Expression dieser Antigene, die es ermöglicht durch anschließende quantitative Bestimmung auf den Aktivitätsgrad der Thrombozyten zurückzuschließen. Für die quantitative Bestimmung eignen sich Antikörper, die mit den Membranproteinen eine Reaktion eingehen. Bereits wenige Sekunden nach Stimulation der Thrombozyten mit Thrombin, findet eine Umverteilung der Membranproteine aus der Granulamembran auf die Zytoplasmamembran statt.

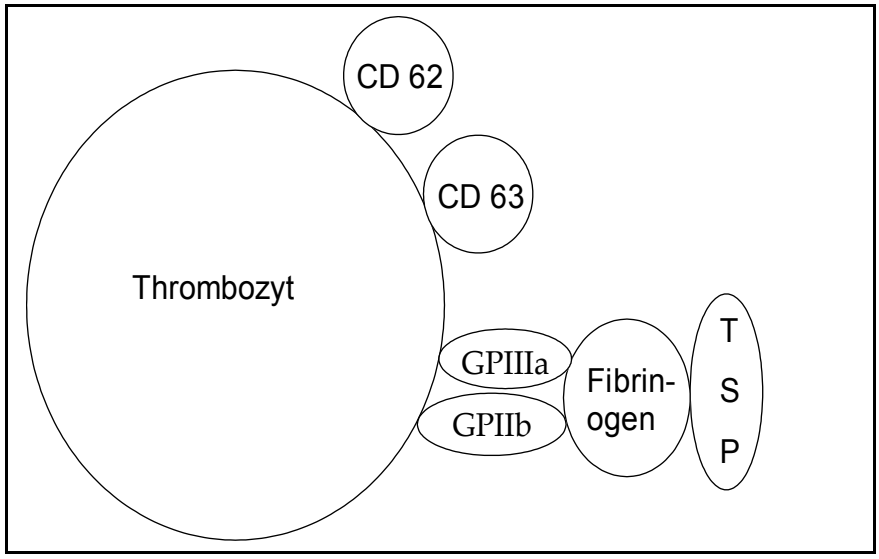

Abbildung 1: Schema der Oberflächenproteine eines aktivierten Thrombozyten. Abk: CD:Cluster of Differentiation, GP:Glykoproteinkomplex, TSP: Thrombospondin

Tschöpe et al. (1993) konnten bereits durch submaximale Thrombinstimulation (0,2 U/ml) in vitro die Zunahme an aktivierten Thrombozyten und die Abnahme der

ruhenden Thrombozyten nachweisen, wobei diese Veränderungen der Antigene der Thrombozytenmembran schon nach längstens 30 Sekunden nahezu maximal waren. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, die Thrombozyten entweder als nicht aktiviert (Marker-negativ) oder als aktiviert (Marker-positiv) zu klassifizieren und somit deren jeweilige prozentuale Verteilung in einer Thrombozytenpopulation anzugeben.

1.3.3.1 CD 62 (GMP-140, P-Selectin, PADGEM) und sein monoklonaler Antikörper

Der monoklonale Antikörper anti-CD 62 (clone CLB-Thromb/6) bindet sich an Epitope eines α-Granula-Membranproteins mit der internationalen Antigen-klassifikation CD 62. Dieses 140-Kilodalton Protein gehört zur Genfamilie der Selektine und befindet sich bei ruhenden Plättchen in der Membran der α-Granula, konnte aber auch in Membranen der d-Granula, in den Palade-Weibel-Körperchen von Endothelzellen und in Zellen des lymphatischen Gewebes nachgewiesen werden (Metzelaar et al., 1991a, Nurden und Nurden, 1993). Nach Plättchen-aktivierung kann es an der Oberflächenmembran nachgewiesen werden, da die α-Granulamembran mit der Oberfläche fusioniert. CD 62 setzt sich aus 789 Aminosäuren zusammen und ragt mit seinem größten Anteil aus der Zellmembran heraus, besitzt aber zusätzlich auch eine transmembranöse und eine zytoplasmatische Domäne. CD 62 wird im weiteren Verlauf nicht wieder ins Zytosol aufgenommen (Collins et al., 1993). Es kann jedoch das sogenannte „Shedding“ beobachtet werden, als welches man die Anlagerung von Leukozyten an die stark aktivierten CD 62 positiven Thrombozyten bezeichnet. Dieses Phänomen tritt vornehmlich bei chronischen Aktivierungsreizen auf und kann folglich eine quantitative Analyse mittels monoklonaler Antikörper verfälschen (Tschöpe et al., 1988; Tschöpe, 1991).

CD 62 bindet an verschiedene Leukozyten-Subtypen, wie neutrophile Granulozyten und Monozyten und vermittelt auch Interaktionen zwischen Endothelzellen und Leukozyten (Furie et al., 1991). Vor allem nach schweren Gefäßtraumata scheint CD 62 ein verlässlicher und schneller Marker für die Plättchenaktivierung zu sein. Auch im Rahmen akut-ischämscher Ereignisse nach PTCA konnte eine signifikante Zunahme der Expression von CD 62 gezeigt werde (Inoue et al., 1996; Kolarov et al., 1996).

1.3.3.2CD 63 und sein monoklonaler Antikörper

Der monoklonale Antikörper anti-CD 63 (clone CLB-gran 12) richtet sich gegen Anteile eines lysosomalen Proteins mit der internationalen Antigenklassifikation CD 63. Dieses CD 63-Protein wiegt 53 Kilodalton, besteht aus 237 Aminosäuren und besitzt vier transmembranöse Regionen (Metzelaar et al., 1991b; Azorsa und Hildreth, 1995).

CD 63 ist in der Membran der thrombozytären Lysosomen lokalisiert und kann nach erfolgter Sekretion dieser auf der Plasmamembran der Thrombozyten nachgewiesen werden (Nieuwenhuis et al., 1987). Obwohl die exakte gerinnungsphysiologische Funktion von CD 63 bislang nicht vollständig aufgeklärt wurde, wird angenommen, dass CD 63 eine wichtige Rolle bei der Adhäsion der Thrombozyten an Gefäßwanddefekte und bei der Bildung von Thrombozytenaggregaten spielt (Chesebro et al, 1997). Tschöpe et al. (1997) konnten mit dem monoklonalen Antikörper AK 2.28 bei Typ-1-Diabetikern mit thrombembolischen Komplikationen eine im Vergleich zu Typ-1-Diabetikern ohne Komplikation signifikant gesteigerte Thrombozytenaktivierung anhand CD 63 nachweisen. Im Vergleich zum Normalkollektiv war CD 63 um das 3,8fache gesteigert.

1.3.3.3Thrombospondin und sein monoklonaler Antikörper

Thrombospondin ist ein 450 Kilodalton schweres Glykoprotein aus der Gruppe adhäsiver Makromoleküle. Dargestellt werden kann Thrombospondin mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers anti-Thrombospondin (clone P10), der sich gegen das Epitop des menschlichen Thrombospondinmoleküls richtet (McLaren, 1983; Clezardin et al., 1986; Legrand et al., 1988). Thrombospondin kommt überall in der Extrazellulärmatrix vor und kann mit einer Vielzahl von Bindegewebsproteinen Verbindungen eingehen. Im Ruhezustand der Thrombozyten sind nur wenige oder keine Thrombospondinmoleküle auf der Oberfläche nachweisbar. Der Hauptteil liegt dann in den α-Granula der Thrombozyten, in denen es mit 25% den größten Anteil der Proteinfraktion stellt. Durch Thrombozytenaktivierung wird Thrombospondin sezerniert und in einer Calcium-abhängigen Reaktion über seinen Rezeptor Glykoprotein-IV an die Plättchenmembran zurückgebunden. Es stabilisiert die Brückenbildung zwischen GP IIb-IIIa und Fibrinogen und damit den Zell-Zell-Kontakt und unterstützt die Konversion reversibler Mikroaggregate in

irreversible Makroaggregate in der sekretionsabhängigen Phase der Aggregation. In der Literatur wurde eine erhöhte Expression von Thrombospondin bei Patienten mit länger bestehendem Diabetes mellitus ohne diabetische Mikroangiopathie und bei Inselzell-Antikörper-positiven Verwandten von Patienten mit Diabetes mellitus (2,8-fache Erhöhung gegenüber der Norm) gezeigt, wobei Thrombospondin vermutlich vor allem eine andauernde Thrombozytenaktivierung anzeigt (Tschöpe et al., 1997). Aber auch im Rahmen akut-ischämischer Ereignisse nach PTCA und bei Patienten mit Multiorganversagen im Rahmen eines septischen Geschehens konnte eine signifikante Vermehrung der Thrombospondin-Expression gezeigt werden (Kolarov et al., 1996).

1.3.4 Plättchenfaktor 4 (PF 4)

Plättchenfaktor 4 ist ein plättchenspezifisches Protein und wird von aktivierten Thrombozyten aus den α-Granula ausgeschüttet, in denen es nach Bildung in den Megakaryozyten gespeichert vorliegt. PF 4 ist ein Tetramer mit einem Molekulargewicht von 32 Kilo-Dalton. Seine Konzentration im Blut beträgt normalerweise 4-10 µg/ l bzw. 0-5 IU/ ml. Nach Aktivierung der Plättchen in vitro steigt die PF 4-Konzentration im Plasma um das 10-50-fache an (Walz, 1984). In vivo wird PF 4 gleichfalls durch Thrombin und andere Plättchenaktivatoren, wie Kollagen, ADP, Immunkomplexe sowie erhöhte Scherkräfte freigesetzt und dann rasch mit einer Halbwertszeit von ca. 20 min reversibel an Glukosaminoglykane an der Oberfläche der Endothelzellen gebunden.

PF 4 besitzt eine sehr hohe Affinität zu Heparin, welches in besonders hoher Konzentration in Gewebsmastzellen im perikapillären Bindegewebe vorkommt. Zusammen mit seinen niedermolekularen Spaltprodukten aktiviert Heparin das die Gerinnung hemmende Antithrombin. PF 4 unterstützt somit durch seine hohe Affinität zu Heparin die Thrombinbildungsrate. Endothelzelldefekte werden so schnell gedeckt. Dieser Reparaturprozess ist aber auch pathophysiologisch von Bedeutung, weil rezidivierende Endotheldefekte via Plättchenanlagerung und Freisetzung von proliferationsinduzierenden Faktoren aus Plättchen zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen der Gefäßwand mit Einlagerung in die Intima führen. Dies entspricht dem Initialstadium der Arteriosklerose.

1.3.5 ß-Thromboglobulin (ß-TG)

ß-Thromboglobulin ist ein Protein und Abbauprodukt des Platelet Basic Protein. Es verhält sich ähnlich wie PF 4, d.h. es wird wie PF 4 in den Megakaryozyten gebildet, in den α-Granula gespeichert und bei der Aktivierungsreaktion aus aktivierten Plättchen freigesetzt. Bei ß-TG handelt es sich um ein plättchen-spezifisches Produkt (Niewiarowski et al., 1976) mit einem Molekulargewicht von 36 Kilo-Dalton (Taomoto et al., 1983). Das Gewicht kommt durch vier identische Untereinheiten zustande, welche aus je 81 Aminosäureresten bestehen (Begg et al., 1978). Die Halbwertszeit ist mit 100 min länger und die Plasmakonzentration mit 12-60 µg/ l bzw. 10-40 IU/ ml höher als diejenige von PF4 (Dawes et al., 1978). ß-TG gehört biochemisch und von der Funktion her zur Gruppe der Chemokine. Die bisher bekannte Funktion besteht in der Kontrolle verschiedenster Regulationsmechanismen. Diese beinhalten proteolytische Prozesse von Chemo-kinvorläufern, Oligomerformationen und der verschiedenartige Gebrauch von Rezeptoren, welche auf neutrophile Granulozyten ansprechen.

Die Erkenntnisse über die Morphologie, Funktion und Interaktion der Thrombozyten haben sich in den letzten Jahren deutlich verbessert. Aufgrund der Komplexität bleiben Unklarheiten über Interaktionen innerhalb des Gerinnungs-systems und den von außen einwirkenden Faktoren bestehen.

1.4 Fragestellung

1. Besteht ein Unterschied in der Thrombozytenaktivierung unter Ruhebedingungen zwischen einer gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe von Patienten mit vermehrten Ängsten?
2. Lässt sich bestätigen, dass psychisch induzierter Stress eine Thrombozytenaktivierung in relevantem Umfang auslöst?
3. Besteht ein Unterschied in dem Ausmaß der Thrombozytenaktivierung unter hervorgerufenen Stressbedingungen zwischen einer gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe von Patienten mit vermehrten Ängsten?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Patienten

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission wurden im Zeitraum von Dezember 2001 bis Februar 2003 insgesamt 29 Patienten aus der Medizinischen Klinik II, Bereich Psychosomatik untersucht. Es nahmen 15 Frauen und 14 Männer im Alter zwischen 20 und 58 Jahren (Mittelwert von 38,7 Jahren) teil. Das entnommene Blut dieser Patienten diente als Grundlage für zwei experimentelle, prospektive Arbeiten: zum einen wurde die Auswirkung von Stress auf die Thrombozytenaktivierung bestimmt (vorliegende Arbeit), zum anderen die Auswirkung auf das plasmatische Gerinnungssystem (Sprickmann, Med. Diss, in Vorbereitung). Die Daten dieses Kollektivs wurden einer Kontrollgruppe von 21 Probanden gegenübergestellt, die sich aus 11 Frauen und 10 Männern im Alter zwischen 20 und 40 (Mittelwert von 25,2 Jahren) zusammensetzte. Diese Kontrollgruppe wurde in einer ersten Pilotstudie der gleichen standardisierten psychischen Stresssituation ausgesetzt (Gräntzdörffer, Med. Diss., in Vorbereitung; Mess, Med. Diss., in Vorbereitung), wie die Probanden dieser Studie.

2.1.1 Einschlusskriterien

In die vorliegende Studie wurden Patienten aufgenommen, die in der Medizinischen Klinik II/ Bereich Psychosomatik der Universität zu Lübeck aufgrund einer Angststörung oder einer Somatisierungsstörung mit körperbezogenen Ängsten stationär behandelt wurden.
Am Untersuchungstag mussten die Patienten körperlich gesund sein und ein unauffälliges Blutbild mit normwertigen Thrombozytenzahlen aufweisen.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterium galt das Vorliegen einer angeborenen Gerinnungsstörung, wie z.B. APC-Resistenz, Hämophilie A und B, als Störungen des intrinsischen Gerinnungssystems, sowie Störungen von Komponenten des extrinsischen Systems (Faktor X-, Faktor-VII-Mangel), das Vorliegen einer erworbenen Gerinnungsstörungen, sei es nach Medikamentengabe (Heparin, Dicumarol,

thrombolytische Therapie) oder bei Thrombozytopenie und Plättchendefekten oder die einfache Gabe von gerinnungsbeeinflussenden Medikamenten innerhalb der letzten 14 Tage. Des Weiteren durften keine malignen Erkrankungen vorliegen und keine Operationen innerhalb der letzten vier Wochen stattgefunden haben.

2.2 Versuchsaufbau und Ablauf des mentalen Stressversuches

2.2.1 Vorgespräch und Aufklärung

Mit den Patienten wurde im Vorfeld ein Aufklärungsgespräch über den allgemeinen Ablauf des Versuches, mögliche Risiken und Komplikationen geführt, in dem auch Fragen von Seiten der Patienten geklärt werden konnten.
Eine Einwilligungserklärung wurde mindestens 24 Stunden vorher unterschrieben.
Bei diesem Aufklärungsgespräch wurden den Probanden bereits einige Fragebögen zur Selbstbeschreibung mitgegeben, die ausgefüllt zum jeweiligen Termin mitgebracht werden mussten. Bei diesen Fragebögen, die auch von der Kontrollgruppe der ersten Studie ausgefüllt wurden, handelte es sich um das *State-Trait-Angstinventar (STAI)* von Laux et al. (1981) und um den *Fragebogen zur Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)* nach Janke et al. (1999). Darüber hinaus erhielten die Patienten den *Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)* von Ehlers et al. (1993). Alle Fragebögen werden im folgenden Abschnitt näher dargestellt und sind im Anhang aufgeführt.

2.2.2 Fragebögen

2.2.2.1State-Trait-Angstinventar (STAI)

Das *STAI* von Laux et al. (1981) wird im klinischen Bereich und in der experimentellen Angst- und Stressforschung eingesetzt.
Mit diesem Angstfragebogen, der sich in zwei Teile gliedert, lässt sich Angst zum einen als Zustand (State-Angst, augenblickliche Gefühlslage, STAI-G Form X1), zum anderen als Eigenschaft (Trait-Angst, allgemeine Gefühlslage, STAI-G Form X2) erfassen, wobei bei der Entwicklung verschiedene Situationseinflüsse und psychische Prozesse berücksichtigt wurden.

Das **State-Modell** erfasst Angst als vorübergehenden, emotionalen Zustand. Dieser Zustand kann in seiner Intensität über Zeit und Situation variieren und ist gekennzeichnet durch Anspannung, Besorgtheit, Nervosität, innere Unruhe und Furcht vor zukünftigen Ereignissen sowie durch eine erhöhte Aktivität des autonomen Nervensystems. Dem gegenüber steht das **Trait-Modell**, welches Ängstlichkeit als überdauerndes Merkmal darstellt. Diese Ängstlichkeit bezieht sich auf relativ stabile interindividuelle Differenzen in der Neigung, Situationen als bedrohlich zu bewerten und hierauf mit einem Anstieg der Zustandsangst zu reagieren. Dieses Persönlichkeitsmerkmal liegt individuell unbeeindruckt von der Zeit und Situation in unterschiedlicher Ausprägung vor. Hochängstliche tendieren dazu, mehr Situationen als bedrohlich einzustufen und auf solche Situationen mit einem höheren Zustandsangstanstieg zu reagieren als Niedrigängstliche (Spielberger, 1981).
Von State-Tests wird eine niedrige Retest-Reliabilität erwartet, da sie sich auf die Erfassung von zeitlich instabilen fluktuierenden Merkmalen richten. Eine hohe interne Konsistenz ist aber besonders wichtig, um auszuschließen, dass sich die niedrige Retest-Reliabilität in hohem Maße auf Messfehler zurückführen lässt. Dies ist durch die umfangreiche Überprüfung und große Teilnehmerzahl der Kontrollstichproben des State-Trait-Angstinventars gewährleistet. Trait-Tests müssen eine hohe Retest-Übereinstimmung bei Messung am gleichen Kollektiv aufweisen, da die Messung eines zeitlich überdauernden Merkmals angestrebt wird. Personen, die sich im Grad der Trait-Angst unterscheiden, weisen nicht immer korrespondierende Unterschiede im Anstieg der Zustandsangst auf. Diese hängt von dem Ausmaß ab, in dem Personen die spezifischen relevanten Stress-situationen als bedrohlich werten und ist damit von unterschiedlichen Vor-erfahrungen beeinflusst. Von der vorhandenen Trait-Angst kann demnach nicht direkt auf die empfundene State-Angst in einer Situation geschlossen werden.

Beide Fragebögen geben eine Reihe von Feststellungen zur Selbstbeschreibung vor und fordern als Antwort die Auswahl zwischen vier Möglichkeiten, denen unterschiedliche Punktwerte zugeordnet sind. Die Summe dieser Punktwerte ermöglicht eine Einordnung im Bezug auf die State- und Trait-Angst im Vergleich zu einer vorgegebenen Stichprobe.

2.2.2.2 Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)

Der *AKV* von Ehlers A et al. (1993) wird zur Diagnostik, Therapieplanung und Erfolgskontrolle bei Patienten mit Ängsten und nicht organisch begründeten körperlichen Symptomen eingesetzt und darüber hinaus als Screening für Paniksyndrom, Agoraphobie sowie für andere Angststörungen. Der *AKV* ist die deutsche Bearbeitung des *Body Sensation Questionnaire (BSQ), Agoraphobic Cognitions Questionnaire (ACQ)* und *Mobility Inventory (MI)* von Chambless et al.. Durch die Auswertung und sinnvolle Kombination der drei Fragebögen können interne Angstauslöser, die zentralen Befürchtungen des Patienten und das Muster des Vermeidungsverhaltens differenziert diagnostiziert werden. In dieser Arbeit richtet sich das Augenmerk auf die Analyse des zusammenhängenden Patientenkollektivs.

Body Sensation Questionaire: Der *BSQ* dient der Einschätzung der Angst vor körperlichen Symptomen und der Beeinträchtigung durch Körperempfindungen. Diese Einschätzung ist wichtig, da die Ausprägung der Angststörung in starkem Maße davon beeinflusst ist, ob die Patienten körperliche Symptome als bedrohlich erleben. Der *BSQ* gibt Symptome vor, die mit physiologischer Aktivierung zusammenhängen und damit häufig jenen Symptomen gleichen, die in Panikanfällen auftreten, also körperliche Begleiterscheinungen der Angst sind. Die zum gegenwärtigen Zeitpunkt erlebte Beeinträchtigung durch die jeweilige Körperempfindung wird abgefragt. Als Beispiel seien Herzklopfen und Schwindel genannt. Von dem Probanden wird ausgewählt, wie schwer er sich beunruhigt und geängstigt fühlt, indem er auf einer Fünf-Punkte-Skala die für ihn am besten zutreffende Antwort auswählt. Die Auswahl der Items erfolgte danach, welche Symptome von Patienten mit Angststörungen bei Konfrontation mit angstauslösenden Situationen, als besonders belastend erlebt werden. Die Reduktion der Angst vor Körperempfindungen kann ein wesentliches Therapieziel sein.

Agoraphobic Cognitions Questionaire: Der *ACQ* erfasst katastrophisierende Gedanken, die Personen mit Angststörungen häufiger durch den Kopf gehen als Personen ohne Angstproblematik. Er spiegelt damit die Angst vor negativen sozialen oder gesundheitlichen Konsequenzen wieder.

Häufig kreisen die Gedanken bei Patienten um körperliche Krisen (z. B. Herzinfarkt, Schlaganfall) oder um Kontrollverlust (z. B. verrückt oder auffällig werden). Anhand des Fragebogens kann zu Aussagen, wie „Ich werde mich lächerlich benehmen." oder „Ich werde vor Angst erstarren." mit Hilfe einer Fünf-Punkte-Skala zwischen verschiedenen Antworten gewählt und der zutreffende Gedanke ausgewählt werden. Bei der Auswertung des Fragebogens können getrennte Werte für die Themen „körperliche Krisen" und „Kontrollverlust" berechnet werden. Der Fragebogen erfasst, wie häufig die typischen angstbezogenen Kognitionen bei den Patienten auftreten und ermöglicht den Vergleich mit Personen ohne Angststörungen.

Mobility Inventory: Dieser Fragebogen macht ein Mobilitäts-Inventar oder frei übersetzt eine Beweglichkeitsbestandsaufnahme. Die im *BSQ* genannten Körperempfindungen und die im *ACQ* erfragten Ängste veranlassen einige Menschen dazu, manche Situationen oder Orte zu vermeiden. Dieses Vermeidungsverhalten beruht auf der oben erwähnten Angst vor körperlichen Begleiterscheinungen der Angst und Angst vor sozialen und gesundheitlichen Konsequenzen. Diese, als Agoraphobien bezeichneten Störungen, gehören zu den häufigsten und beeinträchtigendsten Angststörungen. Die Patienten vermeiden eine Vielzahl öffentlicher Situationen und schränken sich dadurch oftmals stark in ihrem Leben ein. Das Mobilitäts-Inventar fragt ab, in welchem Umfang es zu Vermeidungsverhalten kommt, indem die wichtigsten agoraphobischen Situationen beschrieben werden. Es werden verschiedene Plätze (Kino, Supermärkte, Fahrstühle), Verkehrsmittel (Fahren mit Bussen, Zügen, Untergrundbahnen) und Situationen (Schlange stehen, Brücken überqueren) angegeben und anhand einer Fünf-Punkte-Skalierung abgefragt, wie häufig diese Orte und Situationen vermieden werden. Dabei wird unterschieden, ob das betreffende Vermeidungsverhalten nur alleine oder auch in Begleitung auftritt.

Die Fragenbögen erweisen sich als sensitiv zur Abgrenzung zwischen Personen mit und ohne Angststörungen und zur Therapieerfolgsmessung.

2.2.2.3 Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)

Die *BSKE* nach Janke et al. (1999) ermöglichen eine Einschätzung des Befindens der Probanden. Es sind verschiedene Formen der Fragebögen mit unterschied-

lichen Schwerpunkten erhältlich. In dieser Studie wurden zwei BSKE-Fragebögen über erlebte Emotionszustände ausgewählt. Die BSKE-E 16ak ist die aktuelle Form zur Beurteilung des augenblicklichen Befindens. Sie wird in der ersten und vierten Phase des Versuches verwendet. Die BSKE-E 16retro ist die retrospektive Form und bezieht sich auf Zeitabschnitte, die in der Vergangenheit liegen. Sie wird am Ende der dritten Phase von den Probanden bearbeitet und stellt rückblickend die Befindlichkeit des Probanden unmittelbar bei Redebeginn dar. Beide Fragebögen sind gleich aufgebaut. Es werden 16 Emotionszustände, wie zum Beispiel das Gefühl der Besorgtheit oder das Gefühl des Ärgers, vorgegeben. Anhand einer Skalierung hat der Proband die Möglichkeit die Stärke des erlebten Emotionszustandes auszuwählen. Ausgewertet werden die Items, die sich auf negative Stimmungen beziehen. Die Interpretation der Fragebögen erfolgt im Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe und im zeitlichen Verlauf innerhalb einer Gruppe.

2.2.3 Standardisierte psychische Stresssituation

Das **Ziel dieses Versuchaufbaus** war, eine reproduzierbare ausschließlich mentale Stresssituation zu erzeugen, die bei gesunden Probanden einen Anstieg einiger ausgewählter Gerinnungsparameter auslösen würde.

Versuchsablauf (Abb. 2)

Ort des Versuches war ein ruhiger Raum, in dem ein Tisch und ein verschiebbarer Stuhl mit Rollen standen. Der Raum besaß eine Mattglasscheibe zum Nebenraum, die von den Probanden aus blickdicht war, von außen aber eingesehen werden konnte. In einer Ecke des Raumes befand sich eine fest installierte Kamera, die vom Nebenraum aus bedient werden konnte. Der Ablauf des Versuches erfolgte streng nach einem eigens dafür vorbereiteten Versuchsprotokoll (siehe Anhang), um die Einhaltung der Zeiten zu gewährleisten, und gliederte sich in vier Phasen, die zusammen zwei Stunden in Anspruch nahmen. In dieser Zeit musste der Proband auf dem Stuhl Platz nehmen und durften sich nicht erheben, um eine physische Beeinflussung zu verhindern.

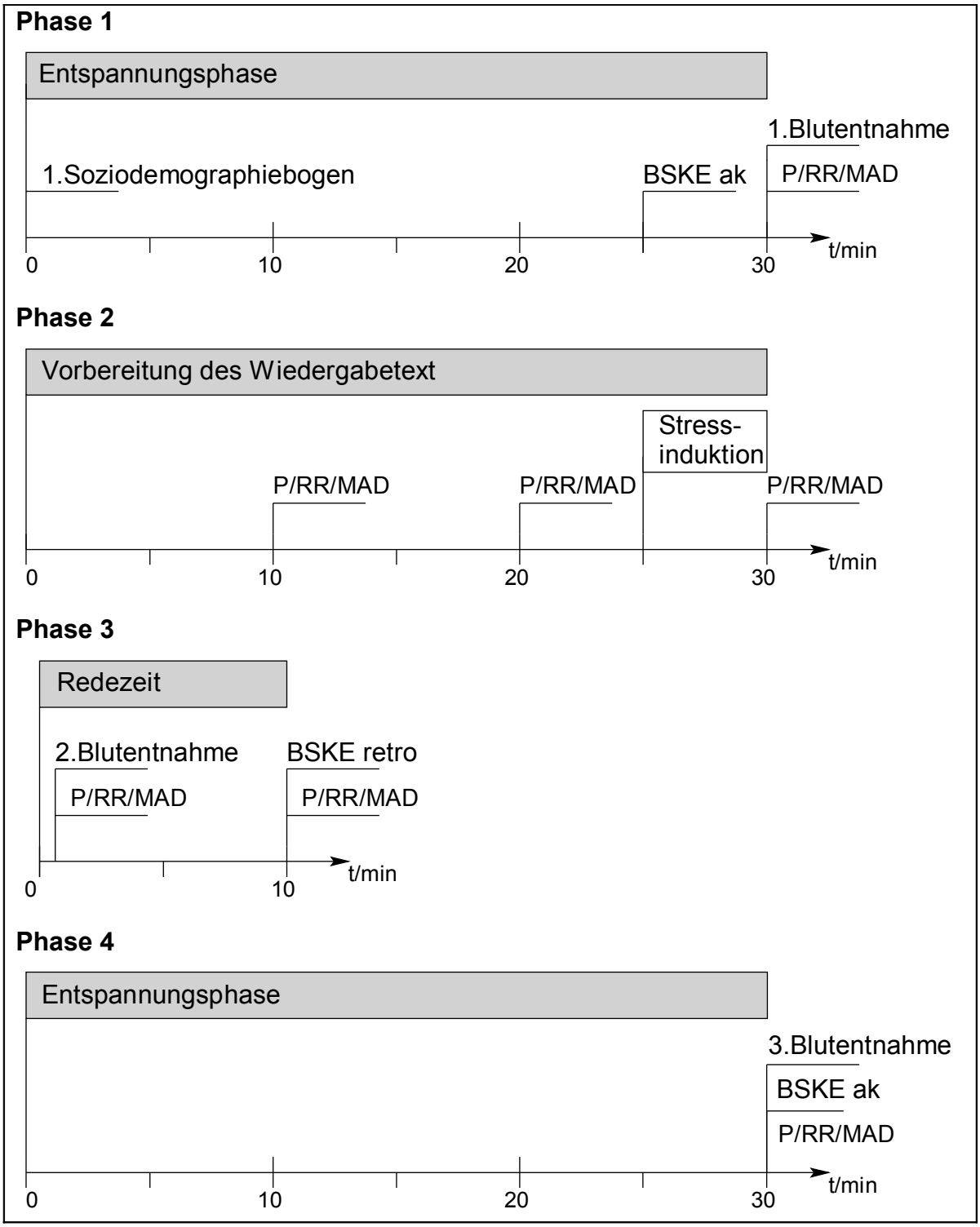

Abbildung 2: Versuchsablauf

Zu Beginn jeder Phase wurde den Probanden ein Instruktionsbogen vorgelegt, auf dem ein kurzer Ablauf der nächsten Zeit und der zu bewältigenden Aufgabe wiedergegeben war (siehe Anhang).

Die **erste Phase** begann immer um acht Uhr morgens, um eine tageszeitliche Schwankung der zu messenden Werte auszuschließen, und diente der Entspannung des jeweiligen Probanden. Sie dauerte 30 Minuten und beinhaltete das Ausfüllen von zwei Fragebögen: zu Beginn einen allgemeinen Fragebogen zur Soziodemographie und nach 25 Minuten einen Fragebogen zur subjektiven augenblicklichen Stresswahrnehmung (BSKE-E 16ak, siehe Abschnitt 2.2.2.3). In der restlichen Zeit konnten die Teilnehmer eine Zeitschrift ihrer Wahl lesen. Nach Ablauf dieser ersten 30 Minuten wurden Blutdruck und Puls mit Hilfe eines elektrischen Blutdruckmessgerätes am Oberarm gemessen und automatisch der mittlere arterielle Druck (MAD) berechnet. Es folgte die erste Blutentnahme.

Danach begann **Phase zwei**, in der die Probanden einen zwölfseitigen komplexen Informationstext über die Ursachen von Angst und Angstanfällen zu lesen bekamen. Dafür war eine Zeit von 30 Minuten vorgegeben. Die im Anschluss zu bewältigende Aufgabe bestand darin, eine 10-minütige freie Rede zu halten, in der der Inhalt des Textes frei präsentiert und die eigene Meinung vertreten werden sollte. Während des Lesens des Textes durften sich die Probanden keinerlei Notizen machen. Nach zehn und zwanzig Minuten, während dieser Lesezeit, wurden ein zweites und drittes Mal Blutdruck, Puls und MAD gemessen. Nach 25 Minuten begann eine fünfminütige Stressinduktion, in der ein Scheinwerfer in dem Zimmer aufgebaut wurde und die Probanden mit Hilfe ihres Stuhles vor die Kamera geschoben wurden. Es erfolgte eine weitere Messung der Kreislauf-parameter. Anschließend wurden die Probanden noch einmal mündlich darüber aufgeklärt, dass die gesamte Rede mit der Kamera aufgenommen werden würde und dass das Videomaterial im Hinblick auf die Art der Präsentation, wie Rhetorik, Mimik und Gestik, sowie inhaltliche Klarheit und Richtigkeit ausgewertet werden würde. Darüber hinaus gab es die Angabe, dass hinter der Mattglasscheibe qualifizierte Beobachter die Rede direkt beurteilen würden.

Mit Beginn des Sprechens startete **Phase drei**. Nach einer halben Minute wurden ein fünftes Mal die Kreislaufparameter gemessen. Es folgte im Anschluss die zweite Blutentnahme. Am Ende der Rede folgte eine sechste Blutdruck-, Puls- und MAD-Messung. Die Probanden bekamen einen zweiten BSKE-Fragebogen (BSKE-E 16retro), sollten nun aber retrospektiv über ihre Befindlichkeit unmittelbar zu Redebeginn Angaben machen.

Die **vierte und abschließende Phase** dauerte weitere 30 Minuten und diente noch einmal der Entspannung. Die Probanden mussten ruhig auf ihrem Stuhl sitzen bleiben. Am Ende wurde ein letztes und siebtes Mal Puls, Blutdruck und MAD gemessen und ein drittes Mal Blut abgenommen. Außerdem sollten die Probanden ein weiteres Mal ihre augenblickliche Befindlichkeit mit dem BSKE-E 16ak Fragebogen einschätzen.

2.3 Blutentnahme

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

Den an der Studie teilnehmenden Patienten wurde während des Versuchablaufs an drei festgesetzten Zeitpunkten Blut abgenommen. Die Abnahmen erfolgten alle nach mindestens zehn Minuten im Sitzen, um eine eventuelle Thrombozytenaktivierung durch hämodynamischen Stress während Belastung auszuschließen oder zu minimieren. Es wurde, soweit dies möglich war, ohne Venenstauung, wenn nötig mit nur geringer Venenstauung (bis maximal 40 mmHg), Blut an möglichst unterschiedlichen Stellen des Armes abgenommen und nicht auf der Seite der Blutdruckmessung. Wenn vorhanden wurde die Stauung vor der Blutentnahme wieder gelöst, um eine Stase zu vermeiden. Es wurde keine Stimulation durch Klopfen oder Faustschluss durchgeführt. Das Blut wurde über das Venenpunktionsbesteck „Venofix“ der Firma Braun (LuerLock, 21 G, 0,8 x 20 mm) mit geringem Sog in zwei 2,9 ml Röhrchen (Sarstedt) mit je 0,1 ml CTAD Antikoagulans zur Thrombozytenstabilisierung (10% [Vol], CTAD: Citrat, Theophyllin, Adenosin, Dipyridamol) und eine 9 ml EDTA-Monovette (Sarstedt) aufgezogen und unter leichtem Schwenken vermischt. Es wurde eine in der Thrombozytendiagnostik übliche Nadelgröße eingesetzt (Winther et al, 1992; McNicol, 1996). Nach Entfernung der Nadel wurde ein kräftiger Druck auf die Entnahmestelle ausgeübt, um eine schnelle Blutstillung herbeizuführen.

Direkt nach der Blutentnahme wurden die Röhrchen mit einem Patientenaufkleber markiert. Zielvorgabe war, die „in vivo“-Ist-Situation der Thrombozyten möglichst unverfälscht widerzuspiegeln. Da generell jede Gefäßpunktion eine Verletzung darstellt, die per Definition auch zu einer Aktivierung der zellulären Hämostase und damit der Thrombozyten führt, sollte durch die vorsichtige Blutentnahme,

soweit wie nur eben möglich, verhindert werden, dass es zu einer artifiziellen Thrombozytenaktivierung kam. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass auch bis zu 5 Punktionen hintereinander bei Normalprobanden nicht zu einer messbaren relevanten Aktivierung des Gerinnungssystems führten.

Die durchflusszytometrischen Vorbereitungen starteten direkt nach der Blutentnahme, indem die Thrombozyten durch Einfüllen von 2ml antikoaguliertem aus dem ersten CTAD-Röhrchen in 2ml Formaldehyd in ihrem Ist-Zustand „eingefroren“ wurden.
Für die ELISA-Bestimmung wurde das Blut in den CTAD-Röhrchen sofort nach Abnahme in Eis gekühlt und innerhalb der nächsten Stunde weiterbehandelt und entsprechend den Firmenangaben eingefroren.

2.4 Durchflusszytometrie

2.4.1 Material der Durchflusszytometrie

Name und Ziel des Tests

Bestimmung von Aktivierungsmarkern auf Thrombozyten im Durchflusszytometer mittels monoklonalen Antikörpern modifiziert gemäß dem Düsseldorfer-III-Assay (Tschöpe und Schwippert, 1994)

Testmaterial

- Vollblut in Röhrchen mit CTAD Antikoagulans (10% [Vol], CTAD: Citrat, Theophyllin, Adenosin, Dipyridamol)

Erworbene Reagenzien

- Formaldehydlösung (37%, säurefrei), Best.-Nr. 3999, Merck, Darmstadt, Deutschland
- Rabbit-Serum, Best.-Nr. R-4504, Sigma, Steinheim, Deutschland
- FACSFlow, Sheath-Fluid, Best.-Nr. 952003, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
- CaliBRITE, Beads zur Einstellung der Fluoreszenzkompensation, Sensitivität und Justierung, Best.-Nr. 95-0002, Becton Dickinson
- Waschlösung: 3,8% NaCitrat (tri- Natrium-Dihydrat), Best.-Nr. 6448, Merck

Antikörper

Folgende Antikörper wurden verwendet:

- Mouse IgG1, konjugiert mit FITC, clone 679.1Mc7, Best.-Nr. 0639, Coulter Immunologie, Marseille, Frankreich
- Mouse IgG1,konjugiert mit PE, clone 679.1Mc7, Best.-Nr. 0635**,** Coulter Immunologie
- CD41, konjugiert mit PE, clone P2, Best.-Nr. 1416**,** Coulter Immunologie
- CD41, konjugiert mit FITC, clone P2, Best.-Nr. 0649**,** Coulter Immunologie
- Thrombospondin, clone P10, Best.-Nr. 0367, Coulter Immunologie
- CD62P konjugiert mit FITC, clone CLB-Thromb/6, Best.-Nr. 1164, Coulter Immunologie
- CD63 konjugiert mit FITC, clone CLB-gran 12, Best.-Nr.1165, Coulter Immunologie

Selbsthergestellte Reagenzien

Folgende Substanzen wurden als Transportmedium und zur weiteren Bearbeitung des Untersuchungsmaterials benötigt und angesetzt:

- Phospat gepufferte Kochsalzlösung (PBS-Puffer) :

1,084g KH_2PO_4 (Merck, Best.-Nr. 4873), 4,510g NA_2HPO_4 (Merck, Best.-Nr. 6580), 4,510g NaCl (Merck, Best.-Nr. 6404) in 1Liter aqua dest, pH 7,2

- 1%ige Paraformaldehydlösung:

10g Paraformaldehyd (PFA reinst, Merck, Best.-Nr. 4005, 011k13276505) in 1Liter PBS, pH 7,2

- Waschlösung

tri-Natriumcitrat-Dihydrat (Merck, Best.-Nr. 6448), 3,8% in PBS, pH 7,2

Einwegartikel

- Neutral Tube, 10 ml Röhrchen aus Polystyrene, Best.-Nr. 62.492, Sarstedt, Nümbrecht
- Ansatzröhrchen für FACScan, Polystyrenreagenzglas 5ml mit Rundboden, Falcon Best.-Nr.35/2052, Becton-Dickinson
- Pasteurpipetten 3ml, Eppendorf, Wesseling-Berzdorf, Deutschland
- Pipettenspitzen weiß, gelb, blau, Eppendorf

Geräte

- Laborzentrifuge, Megafuge 1,0R, Kendro Laboratory Products, Hanau, Deutschland
- Pipetten à 10µl, 50µl, 200µl, 100-1000µl, Eppendorf
- Zellzählgerät: Sysmex M-2000 Digitana AG, Norderstedt, Deutschland
- Durchflusszytometer: FACScan, Becton- Dickinson

2.4.2 Methode der Durchflusszytometrie

Die multiparametrische Durchflusszytometrie ist eine Methode zur optischen Analyse von Zellen auf der Grundlage von Fluoreszenzsignalen und Streulicht-eigenschaften.

Sie ermöglicht es, Blutzellen und Zellen aus anderen Körperflüssigkeiten auf ihre klassische morphologische Differenzierung und auf spezielle Oberflächen-eigenschaften hin zu charakterisieren und besitzt dabei ein hohes Auflösungs-vermögen, so dass eine sehr kleine Anzahl veränderter Zellen in einer großen Population von unveränderten Zellen aufgespürt werden kann. Die zu untersuchenden Zellen, die als Suspension von Einzelzellen vorliegen, passieren hintereinander in einem feinen Flüssigkeitsstrahl in einer Glaskapillare einen Laserstrahl (Argonlaser, Wellenlänge 488 nm). Währenddessen werden Licht-streuung und Fluoreszenzintensität gemessen. Eine Analyse besteht demnach aus der Summe schnell aufeinander folgender Einzelmessungen. Verschiedene Zelleigenschaften, wie Querschnittsfläche, Refraktionsindex, Struktur der Membran (Faltung) und intrazelluläre Bestandteile (Granula, Vakuolen) beein-flussen die Lichtstreuung. Der größte Anteil des Lichtes wird in die Vorwärts-richtung (sog. Vorwärtsstreulicht, engl. Forward Light Scatter, FSC, 0-10 Grad) gestreut und ist in erster Linie ein Maß für die Zellgröße (kleinere Zellen streuen weniger Licht).

Das im rechten Winkel gestreute Licht wird als Seitwärtsstreulicht (engl. Side Scatter, SSC, 90 Grad) bezeichnet und erfasst die Granularität und Zelldichte (Givan, 1992).

Neben der klassischen, morphologischen Differenzierung kann man unter anderem aktivierte Thrombozytenoberflächenantigene mittels Fluorochrom konjugierter Antikörper sichtbar machen (Raffael et al., 1994). Voraussetzung sind spezifische Fluoreszensfarbstoffe, deren Fluoreszenz mit dem Laser angeregt und deren Emission mit dem Durchflusszytometer gemessen werden kann. Senden

die Fluorochrom-Farbstoffe bei Laserbestrahlung unterschiedliche Emissionsspektren aus, so ist eine weitgehende Charakterisierung der Zellpopulaion möglich. In der vorliegenden Arbeit wurden als Fluoreszenzen der Farbstoff Phycoerythrin (PE) und der Farbstoff Fluorescein-Isothiocyanat (FITC) verwendet. Bei Phycoerythrin liegt das Fluoreszenzmaximum mit 575 nm im orangen Bereich, Fluorescein-Isothiocyanat fluoresziert im Bereich zwischen 510 nm und 560 nm und hat sein Maximum bei 525 nm im grünen Bereich. Fluoreszenzfarbstoffe, die an das Fc-Fragment von Immunglobulinen gekoppelt werden, welche sich gegen spezifische antigene Epitope der Zelle richten, sind für die durchflusszytometrische Zelldiagnostik geeignet. Je nach Konzeption des Durchflusszytometers können bis zu fünf Eigenschaften (zwei Lichtstreuungen und drei Fluoreszenzen) einer einzelnen Zelle gemessen werden. Durch die sogenannte 5-Parameter LIST-MODE Datenaufnahme werden alle Eigenschaften einer Zelle gespeichert. Jeweils zwei Eigenschaften einer Zelle können dann später miteinander in Verbindung gesetzt werden. Durch das Definieren von Auswertefenstern („Gating“) werden nur solche Zellen zur Darstellung zugelassen, die bestimmte vorher definierte Eigenschaften aufweisen. Alle Parameter der jeweiligen Analyse werden über eine logarithmische Intensitätsskala registriert, und für das quantitative Ergebnis wird dann die durchschnittliche Signalintensität entsprechend der Anzahl der analysierten Ergebnisse errechnet. Unter korrelierter Zweiparameterdarstellung (Punktplot, DOT-PLOT) versteht man die Verbindung zweier Parameter, wobei die Intensitätsachsen der beiden Parameter so in eine Matrix eingetragen werden, dass sich die Intensitätswerte in einem Punkt schneiden. Dieser Punkt steht damit für eine bestimmte Zelle und zeigt zum Beispiel deren Größe und Fluoreszenz an. So können bestimmte Subpopulationen einer Zellpopulation identifiziert und dadurch eine Aussage über die Zusammensetzung einer Zellpopulation gemacht werden.

Bei der Thrombozytenfluoreszenzfärbung werden monoklonale Antikörper verwendet, die gegen definierte Epitope der Oberflächenmembran der Thrombozyten gerichtet sind.

Zur Kontrolle des Anteils des unspezifisch gebundenen Fluoreszenzfarbstoffes wurde eine Probe zusätzlich mit einem unspezifischen Antikörper (hier Mouse-IgG1 FITC und PE) gefärbt.

Zur internen Kontrolle, ob es sich bei den CD 62, CD 63 und Thrombospondin exprimierenden Zellen und damit den aktivierten Zellen um Thrombozyten handelte, wurden die Proben zuvor mit CD 41, einem Thrombozyten spezifischen Oberflächenantigen, markiert und gegatet. CD 41 bindet selektiv an den Thrombozyten typischen GPIIb-IIIa-Rezeptor.

2.4.3 Präparationsschema

2.4.3.1Thrombozytenseparation

Das Ziel der Aufarbeitung für die Durchflusszytometrie ist die Extraktion der gesamten Thrombozytenmenge aus dem Vollblut. Um die Probenstabilität und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis der Antikörpermarkierung zu erhöhen, wurden die Proben fixiert und gewaschen. Dazu wurde ein erstes Ansatzröhrchen so beschriftet, dass eine eindeutige Reagenzien- und Patientenbestimmung gewährleistet war und mit 2 ml Formaldehyd befüllt. Bei der vorgelegten Formaldehydlösung handelte es sich um 1%ige Paraformaldehydlösung in PBS-Puffer mit einem pH-Wert von 7,2. Direkt nach der Blutentnahme wurde 2 ml Blut aus dem CTAD-Röhrchen in das erste Ansatzröhrchen pipetiert und durch vorsichtiges Schwenken mit dem vorgelegten Formaldehyd gemischt. Im Anschluss wurde 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgten mehrere Schritte zur Thrombozytenseparation aus dem Vollblut, wobei nach folgendem Protokoll vorgegangen worden ist:

- Zentrifugation über 5 min bei 800 Umdrehungen (116 g) ohne Bremse
- Abnahme des plättchenreichen Überstandes mit einer Pasteurpipette mit großzügigem Abstand zur Erythrozytenphase
- Zentrifugation des Überstandes über 5 min bei 2000 Umdrehungen (700 g) ohne Bremse, wodurch sich die Thrombozyten als Pellet am Grunde des Röhrchens ablagerten
- Abpipettierung des plättchenfreien Überstandes, der verworfen wurde
- vollständige Resuspension des plättchenreichen Pellets mit 1,8 ml Waschlösung und 200 µl Kanninchenserum zur Blockade der thrombozytären Fc-Rezeptoren durch im Kanninchenserum vorhandene Immunglobuline
- Zentrifugation über 5 min bei 2000 Umdrehungen (700 g) ohne Bremse

- Abnahme des Überstandes
- Resuspension des Pellets in 1 ml Waschlösung

Anschließend wurde eine Plättchenkonzentrationsmessung im Sysmex durchgeführt. Durch Zugabe von PBS-Puffer wurde die Plättchenanzahl auf eine Konzentration von 50000 Thrombozyten/ µl Konzentrat eingestellt. Darüber hinaus diente diese Messung als Qualitätskontrolle, da sie Informationen über die Ausbeute an Thrombozyten und die Kontamination mit Erythrozyten und Leukozyten gab.

2.4.3.2 Thrombozytenmarkierung mit Antikörpern

In den nächsten Schritten erfolgte die Thrombozytenmarkierung mit aktivitätsabhängigen Antikörpern. Dazu wurde in sieben Röhrchen zu je 100 µl Thrombozytensuspension 25 µl Antikörperlösung nach dem folgenden Schema in Tabelle 2 pipetiert und durch Schwenken gemischt.

Ansatz 1: ohne Antikörper
Ansatz 2: mouse IgG 1-FITC und IgG 1-PE
Ansatz 3: CD 41 PE
Ansatz 4: CD 41 FITC
Ansatz 5: CD 41 FITC und Thrombospondin-PE
Ansatz 6: CD 62 FITC und CD 41 PE
Ansatz 7: CD 63 FITC und CD 41 PE

Tabelle 2: Schema der Antikörperzugabe zu plättchenreichem Plasma

Ansatz 2 diente als Negativkontrolle, da mit den Mouse IgG 1-Antikörpern eine unspezifische Fluoreszenz erfasst werden kann, die von den übrigen spezifischen Aktivitätswerten subtrahiert wird (Michelson und Shattil; 1996 Tschöpe et al., 1990). Ansatz 3 und 4 stellen die Positivkontrolle der Thrombozytenmarkierung dar, da der Marker CD 41 an das Thrombozyten typische GP IIb-IIIa bindet.
Die Ansätze 5-7 stellen die eigentlichen untersuchten Messungen mit dem Maß der Thrombozytenaktivierung dar.

Als nächster Schritt wurden die Testansätze eine Stunde bei Zimmertemperatur im Dunkeln inkubiert. Überschüssige, nicht gebundene Antikörper konnten mit den folgenden Schritten aus den Ansätzen entfernt werden.

- Zugabe von 1 ml Waschlösung zur Verdünnung
- Zentrifugation über 5 min bei 2000 Umdrehungen (700 g) ohne Bremse
- Abnahme von 1 ml Überstand mit nicht gebundenen Antikörpern, verwerfen dieses Überstandes
- Einfüllen von 1 ml PBS-Puffer und damit stoppen der Reaktion

2.4.4 Durchflusszytometrische Messung der Proben

Die hier vorgestellten Messeinstellungen sind identisch zu denen, die in der Kontrollstudie verwandt wurden, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten. Die Thrombozytenzählungen sind alle am gleichen FACScan mit gleicher Sheat-Flüssigkeit (FACSFlow) durchgeführt worden. Die vorgegebene **Geräteeinstellung** lautete: FL1 = 680 log, FL2 = 565 log, wobei FL für die Fluoreszenzkanäle steht. Die Grundeinstellungen für FSC betrug E00 log, für SSC 375 log. Die Kompensation war auf FL-0,2% FL2 festgelegt.

2.4.4.1 Thrombozytenmessung

Pro Probe wurden 10.000 Thrombozyten bei einer Durchflussrate von ca. 1000/ Sekunde gemessen. Dieser relativ langsame Messmodus wurde ausgewählt, um eine exakte Bestimmung der Fluoreszenz zu gewährleisten.
Für jeden Patienten wurde ein Datendeckblatt erstellt und die Proben in der Reihenfolge des Ansatzschemas gemessen.

2.4.4.2 Geräteeichung

Die absoluten Messergebnisse hängen von der Geräteeichung ab. Deswegen wurde anhand eines aktivierten Standards einmal pro Woche eine Kompensationskontrolle mit Hilfe des Kalibrierungskit CaliBRITE durchgeführt.

2.4.4.3 Quantifizierung und Auswertung der Messdaten

Die Datenerhebung und Auswertung wurden mit der CellQuest Software (Version 3.1f) von Becton-Dickinson durchgeführt. Die graphische Darstellung der Fluoreszenzsignale erfolgte in korrelierten Zweiparameter-Punkthistogrammen

(Dot-Plots). Dabei wurde die Fluoreszenz 1 gegen die x-Achse und die Fluoreszenz 2 gegen die y-Achse aufgetragen. Die Signalauflösung wurde logarithmisch verstärkt.
Aufgrund der unterschiedlichen Oberflächenstruktur der Thrombozyten kann man aktivierte von nicht aktivierten unterscheiden. Der Leerwert diente dabei lediglich der Kontrolle der Autofluoreszenz und spielte bei positiven Ergebnissen bei der Auswertung keine Rolle. Die Messungen des mouse IgG 1-FITC und IgG 1-PE Ansatzes dienten der internen Kontrolle des Anteils des unspezifisch gebundenen Fluoreszenzfarbstoffes. Die Messung des Ansatzes einmal mit CD 41 PE und einmal mit CD 41 FITC, diente der internen Qualitätskontrolle zu den Messungen, in denen sich zusätzlich die für die Fragestellung wichtigen fluorenszenzmarkierten Oberflächenmarker CD 62, CD 63 und Thrombospondin befanden und klärte die Frage, ob es sich bei den aktivierten gemessenen Zellen um Thrombozyten handelte.
Die mittlere Oberflächenfluoreszenz von Anti-CD 62, Anti-CD 63 und Anti-Thrombospondin bezieht sich auf die mittlere Fluoreszenz von CD 62, CD 63 und Thrombospondin, die durch Isotypkontrolle normiert wurden. In den ersten Messdurchgängen wurde die PE und FITC-Fluoreszenzschwelle definiert. Es wurden die negativ markierten Zellen ausgegatet und alle Zellen mit einer Fluoreszenz, die darüber hinausging, als positiv bewertet. Der Prozentsatz von aktivierten Thrombozyten bezieht sich auf das Partikelverhältnis der PE und FITC-Fluoreszenz über dieser Schwelle.

2.4.4.4Messprotokoll

Das Messprotokoll enthielt ein Akquisationsfenster, wodurch schon während der Messung Verunreinigungen durch Zellaggregate oder Zelltrümmer eliminiert werden konnten. Dafür wurde eine Region (R4) markiert, welche die Thrombozyten umfasst und den meisten Zellschrott ausgrenzt (siehe Abb. 3). In der Abbildung ist die untersuchte Thrombozytenpopulation als Punktwolke (Dot-Plot) dargestellt. Sie wird charakterisiert durch die Größe und Granularität der einzelnen Partikel.

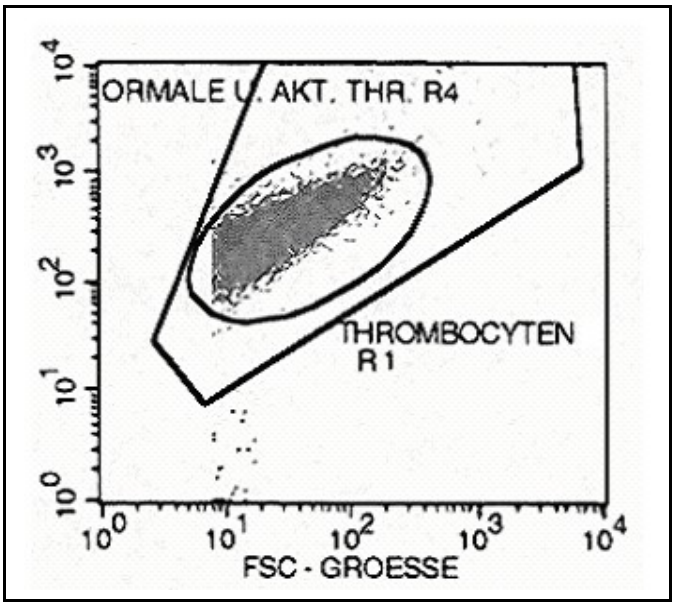

Abbildung 3: Dot-Plot:Thrombozytenmessung. x-Achse: FSC (Vorwärtsstreulicht), y-Achse: SSC (Seitwärtsstreulicht), R4: normale und aktivierte Thrombozyten, R1: in die Messung einfließende Thrombozyten

Die Messung dauerte solange an, bis 10.000 Ereignisse in der Region R1 erfasst wurden. Die Zellen innerhalb der Region R1 erschienen später in der Auswertung.

Beispielhaft zeigen die Abbildungen 4 und 5 zeigen, dass nur jene Thrombozyten in die Auswertung einfließen, die oder FITC-positiv (R3) sind. Es werden also nur jene Thrombozyten eingeschlossen, die sich innerhalb der Zone R3 befinden. In der Kontrollmessung ohne Antikörper liegen keine Thrombozyten in diesem Bereich. Beim vierten Messdurchgang erscheinen die FITC-positiven, also aktivierten Zellen, in der Zone R3. Diese Zone zeigt eine scharf begrenzte Population von Thrombozyten, die alle den Marker CD 41 besitzen. Aus diesen Zellen wird in den anschließenden Messungen mit Anti-CD62, Anti-CD63 und Anti-Thrombospondin der Anteil an mit diesen Antikörpern behafteten Zellen bestimmt.

Die sich anschließenden Messungen mit den Antikörpern seien am Beispiel des Thrombospondins graphisch dargestellt. Im Histogramm 6 zeigen sich Thrombozyten, von denen nur ein Teil aktiviert ist und Thrombospondin als Marker in zunehmender Konzentration enthält. Auch hier fließen nur die Thrombospondin-positiven Zellen, die sich graphisch unter dem Gate R2 befinden, in die prozentuale Auswertung ein und ergeben den Oberflächenmarker positiven Anteil.

Die Absolutwerte der positiven Zellen werden für jeden Marker im Bezug auf die drei Messzeitpunkte zueinander in Beziehung gesetzt und im Vergleich zwischen Patienten- und Studentenkollektiv ausgewertet.

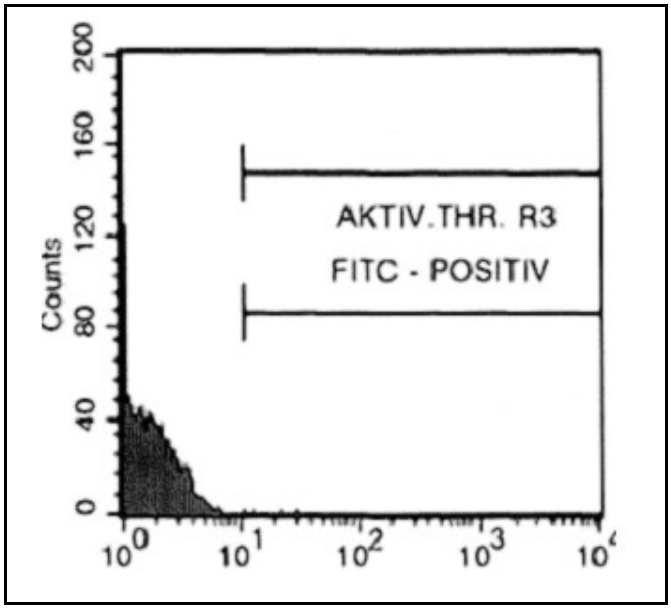

Abbildung 4: Histogramm: Ansatz ohne spezifische Antikörper.
x-Achse: Maß der Fluoreszenz pro Artikel, y-Achse: Ereignisse (Counts), R3: aktivierte Thrombozyten, FITC-positiv

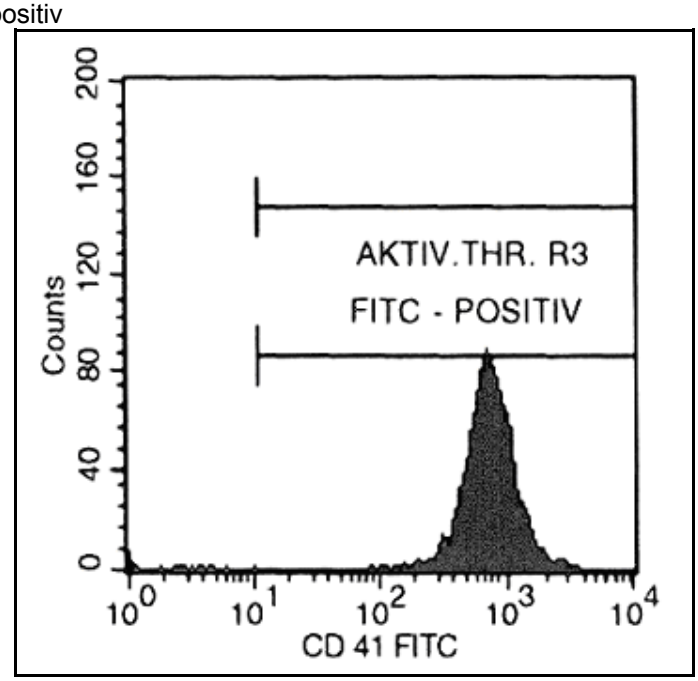

Abbildung 5: Histogramm: Ansatz mit CD 41-FITC Marker.
x-Achse: Maß der Fluoreszenz pro Artikel, y-Achse: Ereignisse (Counts), R3: aktivierte Thrombozyten, CD41-FITC-positiv

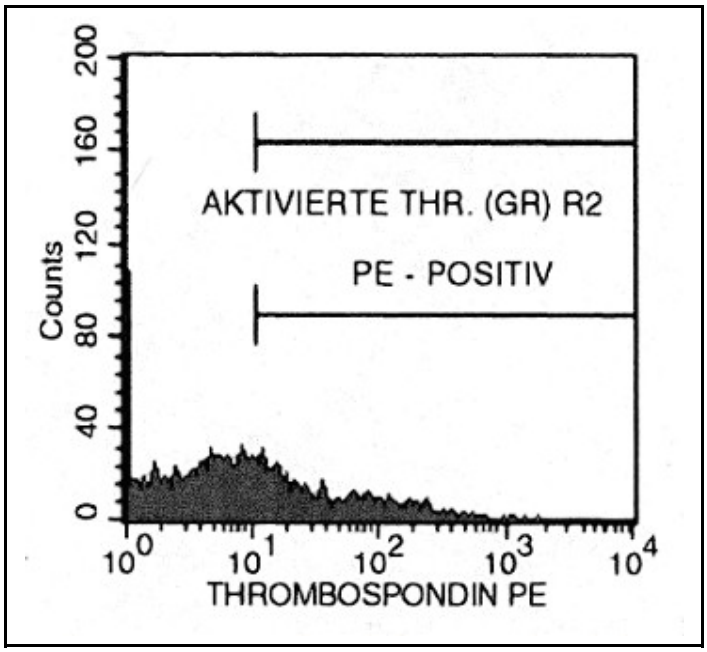

Abbildung 6: Histogramm: Ansatz mit Thrombospondin als Marker.
x-Achse: Maß der Fluoreszenz pro Artikel, y-Achse: Ereignisse (Counts), R2: Thrombospondin-positive Thrombozyten

2.5 Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

2.5.1 Material des ELISA

Plättchenfaktor 4 wurde mit dem vorgefertigten ELISA-Set Asserchrom® PF 4 der Firma Stago Diagnostica, Roche nach dem Sandwich-Prinzip quantitativ bestimmt. Nach dem gleichen Prinzip wurde β-Thromboglobulin mit Asserchrom® β-TG bestimmt. Als Ausgangsmaterial wurde 2ml Plasma aus Röhrchen mit CTAD Antikoagulans (10% [Vol], CTAD) verwendet.

2.5.2 Methode des ELISA

Der Sandwich-Assay beruhte auf dem klassischen Testprinzip: Auf einer Mikrotitrationsplatte ist ein spezifischer Antikörper, z.B. gegen Plättchenfaktor 4 fixiert. Wird eine Blutprobe mit Plättchenfaktor 4 auf die Mikrotitrationsplatte gegeben, binden sich die vorgelegten spezifischen Antikörper in einer ersten Immunreaktion an den gesamten Anteil des Plättchenfaktors 4 der Probe.
In einer zweiten Immunreaktion werden POD-markierte PF 4-Antikörper auf die Mikrotirationsplatte pipettiert, die sich an den bereits gebundenen Plättchenfaktor 4 der Blutprobe anbinden und so die klassischen Sandwich-Komplexe bilden.

Die gebundene POD-Menge kann photometrisch bestimmt werden und stellt ein Maß für die Menge der Sandwich-Komplexe und damit den PF4-Gehalt der Probe dar (Lane et al., 1986).

2.5.3 Messung der Proben

Nach der Testdurchführung wurden die Extinktionen der POD-markierten Antikörper laut Standard bei 492 nm gemessen und auf doppelt logarithmischen Papier gegen Plättchenfaktor 4 in IU/ ml aufgetragen.
Der Referenzbereich lag bei 0-5 IU/ ml. Die Intensität der entstehenden Farbe war dem Gehalt des PF 4 in der Probe proportional.

2.6 Statistische Auswertung der Messergebnisse

Die gesamte statistische Analyse erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS.

Der Vergleich der Patienten- mit der Kontrollgruppe wurde in verschiedenen Bereichen mit dem T-Test für unabhängige Stichproben berechnet. Varianzanalysen mit Messwiederholung wurden für den Vergleich der beiden Gruppen miteinander über die jeweiligen Messzeitpunkte und zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit eingesetzt. Zusätzlich erfolgte die Berechnung eines möglichen Interaktionseffektes zwischen den Haupteffekten Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit.

Neben den durchgeführten Varianzanalysen wurde der T-Test für wiederholte Messungen berechnet. Das Signifikanzniveau liegt bei $\leq 0{,}05$. Da es sich um eine explorative Studie mit kleinem Stichprobenumfang handelt, wurde auf eine Alphafehleradjustierung verzichtet.

3 ERGEBNISSE

3.1 Vergleichende soziodemographische Auswertung der beiden Probandenkollektive

Von den insgesamt 50 untersuchten Probanden befanden sich 21 in der zuerst durchgeführten Studie, die hier als Kontrollgruppe fungiert und 29 Patienten im aktuellen Teil. Das Durchschnittsalter in der Kontrollgruppe beträgt 25,2 Jahre (Standardabweichung (sd)= 1,44) und in der Patientengruppe 38,7 Jahre (sd= 9,38). Es ergibt sich hiermit im Hinblick auf das Alter ein signifikanter Unterschied zueinander ($T_{(48)}$= 6,51; p< 0,001). Dieser Unterschied ist damit zu erklären, dass an dem ersten Teil der Studie Studenten als Probanden teilgenommen haben, während im zweiten Teil Patienten aus der Medizinischen Klinik II/ Bereich Psychosomatik verschiedener Altersklassen teilgenommen haben. In der Literatur lassen sich keine Hinweise darauf finden, dass das Alter einen Einfluss auf die Thrombozytenaggregation hat. Die Differenz in der Altersverteilung macht sich bei der Auswertung weiterer soziodemographischer Daten bemerkbar: 35% der teilnehmenden Patienten gaben an verheiratet zu sein, 41% ledig. In der Kontrollgruppe war keiner der Studenten verheiratet, sondern alle ledig. In beiden Gruppen leben aber mehr als 55% der Probanden in einer festen Partnerschaft. 79% der Patienten führen ihren eigenen Haushalt. Bei den Studenten führen 51% ihren eigenen Haushalt und 43% leben in einer Wohngemeinschaft. In Bezug auf das Bildungsniveau besitzen 79% der teilnehmenden Patienten einen Realschulabschluss oder Abitur. Bei den Studenten der Kontrollgruppe besitzen alle das Abitur.

3.2 Auswertung der Fragebögen

Zunächst werden die Ergebnisse der Fragebögen, die bereits im Vorfeld des Versuches den Probanden zur Selbstbeschreibung mitgegeben wurden, dargestellt. Soweit in beiden Gruppen durchgeführt, erfolgen die Vergleiche der Patienten- mit der Kontrollgruppe untereinander. Beim Vorliegen vorgegebener Testwertestatisiken werden diese mit eingezogen und ausgewertet.

3.2.1 State-Trait-Angstinventar (STAI)

Das *STAI* ist bezüglich der Zustandsangst (State-Angst) nur in der Patientengruppe durchgeführt worden. Diese Ergebnisse werden daher nicht mit der Kontrollgruppe, sondern mit den von Laux et al. (1981) beschriebenen Testwertestatistiken einer vorgegebenen Normstichprobe verglichen. Diese Normstichprobe setzt sich aus der Auswertung der Daten von 1107 Männern und 1278 Frauen zusammen.

Die Auswertung der Patientengruppe ergab, dass die **State-Angst** bei einem Punkt-Mittelwert von 47,7 (sd= 5,6) lag und damit signifikant höher war, als bei den von Laux et al. beschriebenen Gruppen. So liegt die State-Angst der Eichstichprobe bei Männern bei einem Mittelwert von 36,83 (sd= 9,82) und die der Frauen bei einen Mittelwert von 38,08 (sd= 10,29). Für die State-Angst bietet der STAI keine Normierung, da die Skala zur Änderungsmessung konstruiert wurde und statische Vergleiche in diesem Zusammenhang wenig sinnvoll erscheinen.

Mit Hilfe des T-Testes kann dennoch der Vergleich unserer Mittelwerte zu denen der Eichstichprobe errechnet werden. Es ergeben sich deutliche und statistisch signifikante Unterschiede, sowohl bei den Männern ($T= 4,31$; $p<0,001$), als auch bei den Frauen ($T= 3,43$; $p< 0,01$).

Die **Trait-Angst**, also die Ängstlichkeit als überdauerndes Merkmal Angst, wurde sowohl in der Patientengruppe (m= 54,5; sd= 11), als auch in der Kontrollgruppe (m= 36,6; sd= 7,7) bestimmt. Der T-Test für unabhängige Stichproben ergab, dass die Patientengruppe signifikant ängstlicher war als die Probanden der Kontrollgruppe ($T_{(48)}= 6,8$; $p< 0,001$). Dies war Voraussetzung für den Einschluss der Patienten. Die ausgeprägte Ängstlichkeit zeigt sich auch im Vergleich zu den Daten von Laux et al.: In der Gruppe der Männer liegt der Mittelwert für die Trait-Angst bei 34,45 (sd= 8,83) und in der Gruppe der Frauen liegt der Mittelwert bei 37,01 (sd= 9,95).

Nach der Normierung des STAI entspricht der Mittelwert der Patientengruppe einem T-Wert von 68 bzw. einem Prozentstrang von 96 in den Normtabellen. Damit liegt er fast zwei Standardabweichungen über dem Mittelwert der Normstichprobe. 96 Prozent der Probanden der Eichstichprobe haben damit Werte, die kleiner oder gleich dem Mittelwert der Patientengruppe liegen.

3.2.2 Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)

Der *AKV* setzt sich, wie in 2.2.2.2. beschrieben, aus dem *Body-sensationsfragebogen (BSQ)*, dem *Fragenbogen zu angstbezogenen Kognitionen (ACQ)* und dem *Mobilitätsinventar (MI)* zusammen. Dieser Fragebogen ist nur in der Patientengruppe eingesetzt worden. Daher werden zur Interpretation der Ergebnisse wiederum Vergleichsdaten aus der Literatur herangezogen.
Die Auswertung des *BSQ* ergab einen Mittelwert von 2,6 (sd= 0,83) und ist somit gut vergleichbar mit den in der Literatur angegebenen Werten für Menschen mit Angststörungen. So ergibt sich in Vergleichstabellen (Ehlers et al., 1993) in der Auswertung des *BSQ* bei Panikpatienten (n= 117) ein Mittelwert von 2,67 (sd= 0,70). Personen mit seltener Panik liegen bei m= 2,21 (sd= 0,55) und Personen mit anderen Angststörungen bei m= 2,00 (sd= 0,65). Die durchgeführte Befragung von psychisch gesunden Personen ergab einen Mittelwert von 1,46 (sd= 0,47).

Die Auswertung des *Fragebogens zu angstbezogenen Kognitionen (ACQ)* ergab in der Patientengruppe einen Mittelwert von 1,9 (sd= 0,58). Auch dieser Wert ist typisch für Patienten mit Angststörungen.
In den Vergleichstabellen von Ehlers et al. zeigt sich bei Panikpatienten ein Mittelwert von 2,06 (sd= 0,56), bei Personen mit seltener Panik von 1,71 (sd= 0,45) und Personen mit anderen Angststörungen ein Wert von 1,76 (sd= 0,47). Die durchgeführte Befragung von psychisch gesunden Personen ergab einen Mittelwert von 1,20 (sd=0,21).

In der Auswertung des *Mobilitätsinventars (MI)* zeigt sich eine deutliche Beeinträchtigung der Beweglichkeit bei den Patienten dieser Studie. So liegt der Mittelwert des *MI in Begleitung* in unserer Patientengruppe bei Werten von 2,0 (sd= 0,74). In der Vergleichstabelle von Ehlers et al. liegt der Mittelwert in der Gruppe der Panikpatienten bei 1,97 (sd= 0,90), bei Personen mit seltenen Panik-anfällen bei 1,36 (sd= 0,49) und bei Personen mit anderen Angststörungen bei 1,39 (sd= 0,50). Die durchgeführte Befragung von psychisch gesunden Personen ergab einen Mittelwert von 1,07 (sd=0,13). In der Auswertung des *MI alleine* liegt der Mittelwert bei den Patienten dieser Studie bei 2,5 (sd= 0,89). In der

Vergleichtabelle von Ehlers et al. liegt der Mittelwert des *MI alleine* bei Panikpatienten bei 2,67 (sd= 1,12), bei Personen mit seltenen Panikanfällen bei 1,69 (sd= 0,68) und bei Personen mit anderen Angststörungen bei 1,63 (sd= 0,60). Der Mittelwert in der Gruppe der psychisch gesunden Personen liegt bei 1,22 (sd=0,26).

3.2.3 Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)

Der *BSKE* wurde dreimal im Verlaufe des Versuches eingesetzt: zu Beginn in der Entspannungsphase, retrospektiv für den Moment zu Beginn der Rede und in der abschließenden Entspannungsphase.

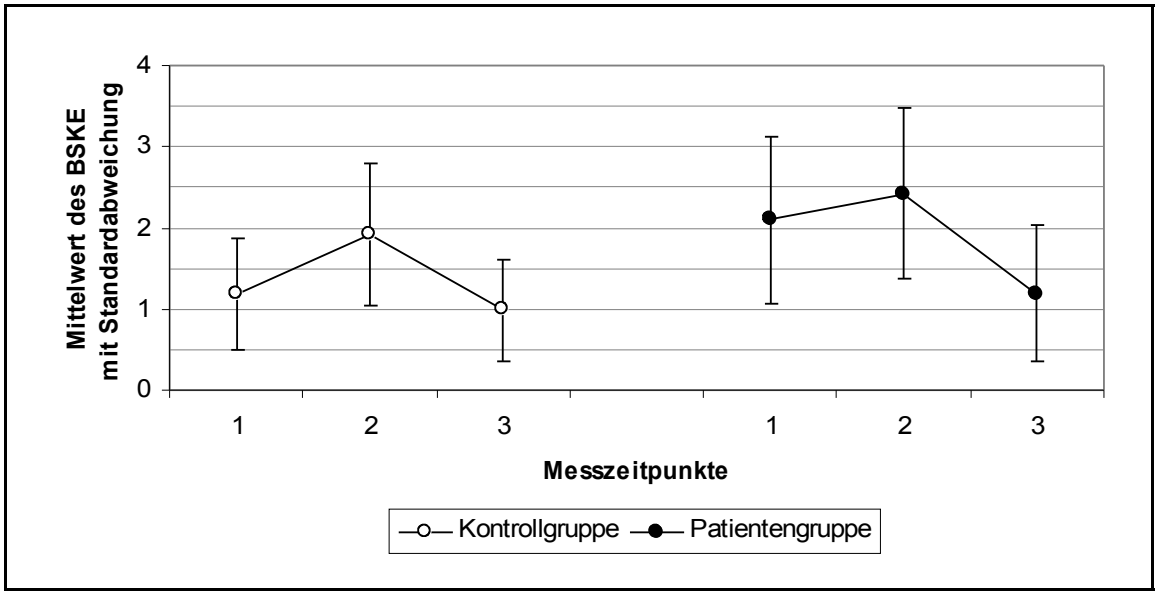

Abbildung 7: Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern

Der zeitliche Verlauf der beiden Gruppen war unterschiedlich und ist in Abbildung 7 dargestellt. So zeigt die Auswertung des *BSKE-E 16ak* in der ersten Phase, dass die Patientengruppe (m= 2,1; sd= 1,03) im Vergleich zur Kontrollgruppe (m= 1,2; sd= 0,69) auf einem ängstlicheren und angespannteren Befindlichkeitsniveau als Grundeinstellung in den Versuch startete. Der sich anschließende zeitliche Verlauf über die zwei weiteren Messzeitpunkte hinweg zeigte in der Studentengruppe einen deutlichen Anstieg von der Ruhebedingung zur Stresssituation (m= 1,9; sd= 0,88) und einen nachfolgenden Abfall zur erneuten Ruhe (m= 1,0; sd= 0,63).

Die Patientengruppe begann mit den oben genannten höheren Ausgangswerten, welche sich unter Stressbedingung weiter erhöhten (m= 2,4; sd= 1,05) und danach deutlich abfielen (m= 1,2; sd= 0,84).
Ein statistisch signifikanter Unterschied an den vorgegebenen Messzeitpunkten zwischen den Gruppen findet sich nur beim ersten Messzeitpunkt (T= 3,52; p< 0,05). Bei der Varianzanalyse mit Messwiederholung finden sich signifikante Haupteffekte zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F= 6,57; p< 0,05) und zu Lasten der Messzeitpunkte (F= 38,9; p<0,001), sowie ein signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Haupteffekten Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit (F= 4.21; p< 0,05).

3.3 Auswertung der Kreislaufparameter

3.3.1 Mittlerer arterieller Blutdruck

Der mittlere arterielle Blutdruck (MAD) wurde zu sieben Zeitpunkten, sowohl in der Kontroll- als auch in der Patientengruppe bestimmt und ist in Abbildung 8 dargestellt. Der MAD ist ein zu berechnender Wert, der die Größe des Blutdrucks als treibende Kraft im Körperkreislauf angibt. Er ist bestimmbar durch die Division des Flächenintegrals unter der aufgezeichneten Druckkurve durch die Pulsdauer. In herznahen Arterien ist er fast identisch mit dem arithmetischen Mittel von systolischem und diastolischem Blutdruck. In herzfernen Arterien liegt er niedriger.
Der erste Messzeitpunkt lag in der Entspannungsphase und stellt somit den individuellen Ausgangswert für die beiden Gruppen dar. Dabei lag der MAD in der Patientengruppe bei einem Mittelwert von 88,26 (sd= 13,68) und in der Kontrollgruppe bei m= 88,81 (sd= 10,23).
Die zweiten, dritten und vierten Messzeitpunkte folgten im Abstand von 10 Minuten in der zweiten Phase in der Vorbereitungszeit vor dem freien Sprechen. Beim zweiten Messpunkt stieg der MAD leicht in der Patientengruppe auf einen Wert von 90,70 (sd= 13,88) und in der Kontrollgruppe auf m= 89,24 (sd= 9,68). Zum dritten Zeitpunkt blieb der MAD in der Patientengruppe konstant bei m= 90,70 (sd= 14,49) und stieg ganz leicht in der Kontrollgruppe auf m= 89,81 (sd= 10,19). Zum vierten Messzeitpunkt stiegen in beiden Gruppen die Werte an und zwar in der Patientengruppe auf m= 94,11 (sd= 15,41) und in der Kontrollgruppe auf m= 98,67 (sd= 8,48). Der fünfte Messzeitpunkt lag in der aktiven Sprechphase

des Versuches und fand nach genau einer halben Minute freien Sprechens statt. Er erreichte hier Werte in der Patientengruppe von m= 110,52 (sd= 15,50) und in der Kontrollgruppe von m= 113,38 (sd= 13,18). Am Ende der Rede folgte eine sechste MAD-Auswertung, wobei hier der Mittelwert in beiden Gruppen wieder abgesunken war auf m= 93,67(sd= 13,48) in der Patientengruppe und auf m= 96,57 (sd= 8,59) in der Kontrollgruppe. Als letzte Überprüfung der Kreislaufparameter wurde eine siebte MAD-Messung am Ende der abschließenden Phase nach halbstündiger Entspannung durchgeführt. Die Patientengruppe erreicht knapp Werte unter ihrem Ausgangswert m= 87,74 (sd= 10,80). Die Kontrollgruppe lag knapp über ihrem Ausgangswert mit m= 91,86 (sd= 7,23).

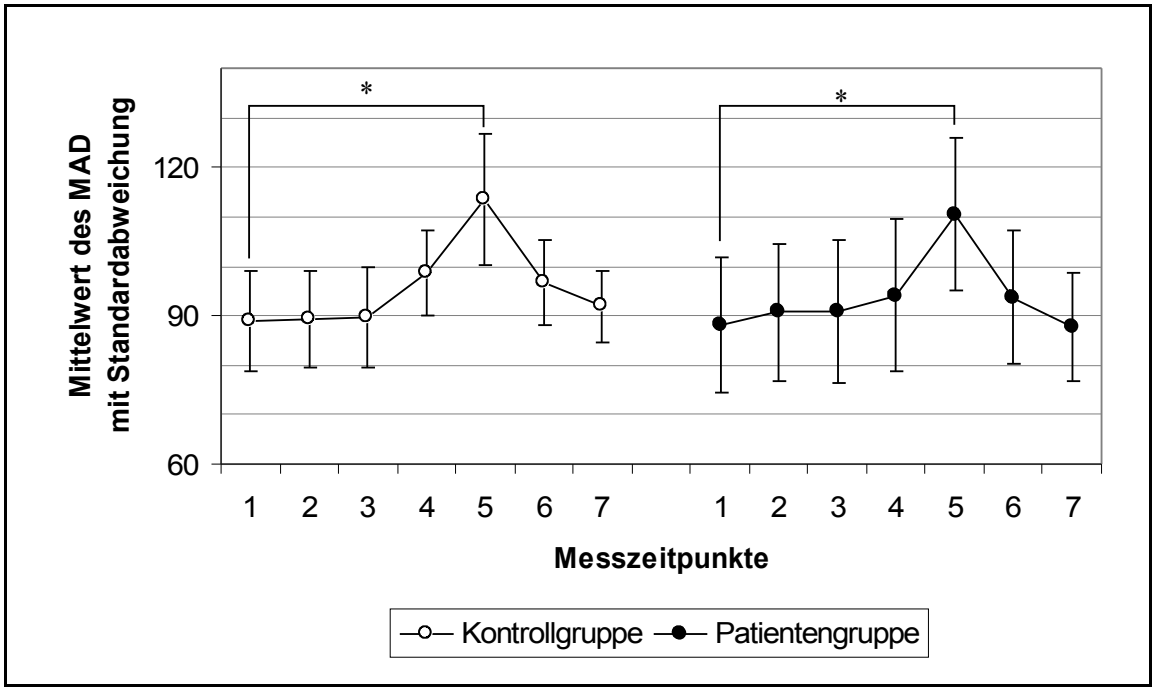

Abbildung 8: Mittlerer Arterieller Blutdruck (MAD)
* = p < 0,05

Mit dem Test für Mittelwertgleichheit bei unabhängigen Stichproben zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen an den einzelnen Messzeitpunkten. Bei der Varianzanalyse zeigt sich ein signifikanter Haupteffekt zu Lasten des Messzeitpunktes (F= 45,01; p< 0,001). Es findet sich kein signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Haupteffekten Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit (F= 0,97; p= 0,48). Bei Berechnung zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F= 0,42; p= 0,52) findet sich ebenso kein signifikanter Unterschied.

Der T-Test für wiederholte Messungen im Vergleich der Messzeitpunkte zeigt, sowohl in der Kontroll- als auch in der Patientengruppe, vom ersten Messzeitpunkt unter Ruhebedingungen zum siebten Messzeitpunkt unter akuten Stressbedingungen signifikante Anstiege ($p<0,05$) auf.

3.3.2 Pulsfrequenz

Mit dem MAD wurde die durchschnittliche Pulsfrequenz ermittelt, die in Abbildung 9 im zeitlichen Verlauf dargestellt ist. Der erste Messzeitpunkt in der Entspannungsphase betrug in der Patientengruppe m= 82,68 (sd= 14,51) und in der Kontrollgruppe m= 79,62 (sd= 13,20). Zum zweiten Zeitpunkt fiel die durchschnittliche Pulsfrequenz in der Patientengruppe leicht auf m= 82,32 (sd= 14,12) und in der Kontrollgruppe stärker auf m= 74,86 (sd= 12,68) ab. Zum dritten Messzeitpunkt stieg der Mittelwert leicht in der Patientengruppe auf m= 82,82 (sd= 15,14) und in der Kontrollgruppe auf m= 75,81 (sd= 10,00). Beim vierten Messzeitpunkt lag die Pulsfrequenz in der Patientengruppe bei m= 84,32 (sd= 14,38) und in der Kontrollgruppe bei m= 89,19 (sd= 16,01). Der fünfte Messzeitpunkt in der aktiven Sprechphase des Versuches erreichte Werte in der Patientengruppe von m= 91,21 (sd= 19,47) und in der Kontrollgruppe von m= 95,76 (sd= 19,70).

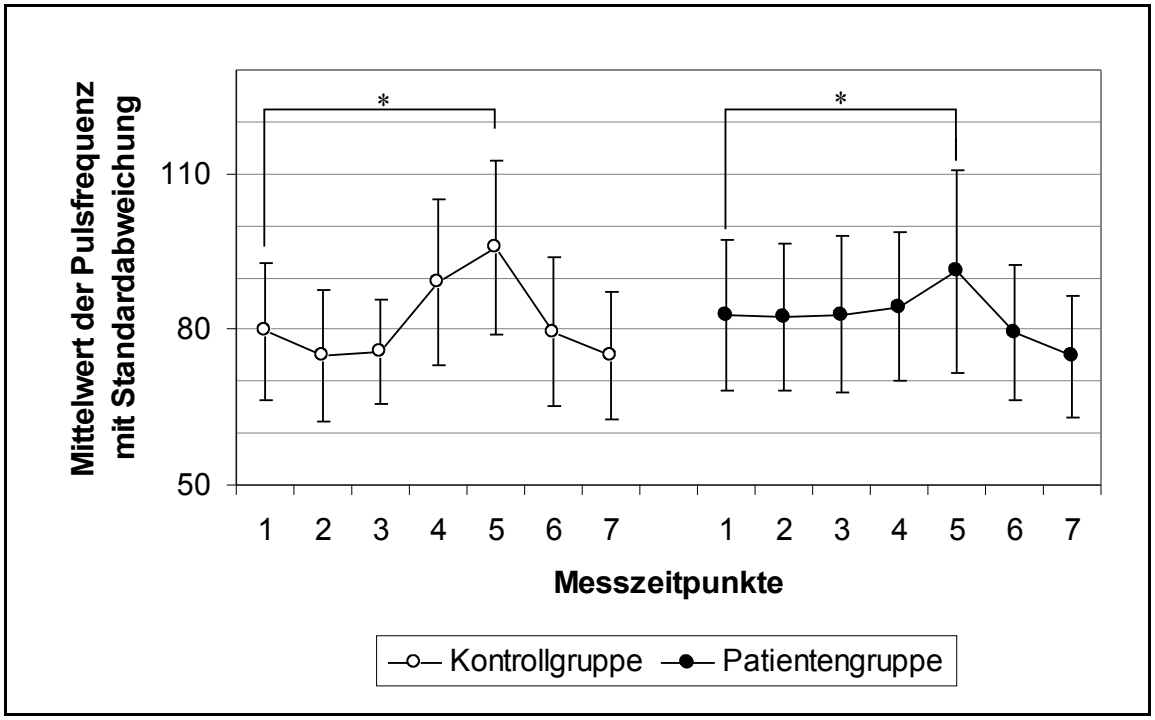

Abbildung 9: Pulsfrequenz
* = p < 0,05

Am Ende der Rede zum sechsten Messzeitpunkt lagen die Werte in der Patientengruppe bei m= 79,32 (sd= 13,13) und in der Kontrollgruppe bei m= 79,52 (sd= 14,37). Nach halbstündiger Entspannung am siebten Messzeitpunkt betrug die Pulsfrequenz in der Patientengruppe m= 74,75 (sd= 11,90) und in der Probandengruppe m= 75,05 (sd= 12,32).
Im Vergleich zum Ausgangswert steigt die Pulsfrequenz signifikant über den Zeitraum des Versuches an, dies zeigt sich in der Varianzanalyse in einem signifikanten Haupteffekt zu Lasten des Messzeitpunktes ($F= 35,22$; $p< 0,001$). Ebenso zeigt sich ein signifikanter Interaktionseffekt zwischen den Haupteffekten Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit ($F= 5,73$; $p< 0.001$). Der Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit ist statistisch nicht signifikant ($F= 0,08$; $p= 0,77$). Im T-Test für die Mittelwertgleichheit zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten.
Im Vergleich der Messzeitpunkte untereinander ergeben sich mit dem T-Test für wiederholte Messungen signifikante Unterschiede, sowohl in der Kontroll-, als auch in der Patientengruppe vom ersten Messzeitpunkt unter Ruhebedingungen zum siebten Messzeitpunkt unter akuten Stressbedingungen ($p<0,05$).

3.4 Auswertung der Thrombozytenmembranproteine

Die Durchflusszytometrie soll zum Nachweis von mit Thrombozytenaktivität assoziierter Oberflächenmarker führen. CD 62, CD 63 und Thrombospondin sollen durch gegen sie gerichtete monoklonale Antikörper identifiziert werden.

3.4.1 Auswertung des Thrombozytenmarkers CD 62

CD 62 ist sowohl in der Patientengruppe, als auch in der Kontrollgruppe an den drei definierten Messzeitpunkten bestimmt worden. Die gewonnenen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen sind in Tabelle 3 dargestellt.

Der T-Test für unabhängige Stichproben zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen am ersten Messzeitpunkt, nicht jedoch am zweiten und dritten Messzeitpunkt.

	Kontrollgruppe	Patientengruppe	T-Test

	(n=15)		(n=28)			
CD 62	**Mittelwert**	sd	**Mittelwert**	sd	**t**	p
Messzeitpunkt 1	**34,82 %**	22,16	**24,49 %**	9,67	**2,13**	<0,05
Messzeitpunkt 2	**30,61 %**	16,97	**22,72 %**	9,91	**1,93**	0,06
Messzeitpunkt 3	**23,74 %**	12,65	**22,27 %**	9,63	**0,43**	0,67

Tabelle 3: Thrombozytenmarker CD 62

Bei der Varianzanalyse findet sich kein signifikanter Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F= 4,0; p= 0,52). Der Haupteffekt zu Lasten des Messzeitpunktes ist signifikant (F= 4,58; p< 0,05), während der Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit nicht signifikant ist (F= 2,16; p= 0,12).

Innerhalb den einzelnen Gruppen ergeben sich zwischen den Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede (p> 0,05).

3.4.2 Auswertung CD 63

Ebenso wie CD 62 ist das Vorliegen des Oberflächenmarkers CD 63 quantitativ in beiden Gruppen an den drei einheitlichen Messzeitpunkten erfasst und ausgewertet worden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

	Kontrollgruppe (n=15)		Patientengruppe (n=28)		T-Test	
CD 63	**Mittelwert**	sd	**Mittelwert**	sd	**t**	p
Messzeitpunkt 1	**70,82 %**	11,32	**63,84 %**	12,47	**1,81**	0,08
Messzeitpunkt 2	**72,16 %**	8,67	**60,54 %**	11,36	**3,45**	<0,01
Messzeitpunkt 3	**61,39 %**	15,98	**58,77 %**	12,77	**0,59**	0,56

Tabelle 4: Thrombozytenmarker CD 63

Der T-Test für unabhängige Stichproben zeigt am zweiten Messzeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf, nicht jedoch am ersten und dritten Zeitpunkt.

Bei der Varianzanalyse findet sich ein signifikanter Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F= 4,58; p< 0,05) und zu Lasten des Messzeitpunktes (F= 9,24; p< 0,001). Ein signifikanter Interaktionseffekt findet sich nicht (F= 3,03; p= 0,05).

Innerhalb der Kontrollgruppe zeigen sich keine signifikanten Veränderungen zwischen den Messzeitpunkten (p> 0,05). In der Patientengruppe ergibt sich ein

signifikanter Abfall vom zweiten zum dritten Messzeitpunkt (p< 0,05), keine signifikante Veränderung vom ersten zum zweiten Messzeitpunkt (p> 0,05).

3.4.3 Auswertung Thrombospondin

Die Messergebnisse des Vorliegens von Thrombospondin sind in Tabelle 5 dargestellt.

	Kontrollgruppe (n= 15)		Patientengruppe (n=28)		T-Test	
Thrombospondin	**Mittelwert**	sd	**Mittelwert**	sd	**t**	p
Messzeitpunkt 1	**29,36 %**	5,50	**24,92 %**	19,92	**1,10**	0,28
Messzeitpunkt 2	**36,33 %**	8,75	**22,71 %**	16,14	**3,59**	<0,01
Messzeitpunkt 3	**26,23 %**	7,58	**26,07 %**	17,09	**0,04**	0,97

Tabelle 5: Thrombozytenmarker Thrombospondin

Mit dem T-Test für unabhängige Stichproben zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen am zweiten Messzeitpunkt, nicht jedoch am ersten und dritten Messzeitpunkt. Bei der Varianzanalyse findet sich weder ein signifikanter Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F=1,88; p=0,18), noch im Bezug auf den Messzeitpunkt (F= 2,24; p= 0,11), wohl aber ein signifikanter Interaktionseffekt (F= 8,83; p< 0,001).
Innerhalb der Patientengruppe gibt es zwischen den Messzeitpunkten keine signifikanten Veränderung (p> 0,05). Dahingegen zeigt sich in der Kontrollgruppe ein signifikanter Anstieg und Abfall zwischen den Messzeitpunkten (p< 0,05).

3.5 Auswertung der Granulainhaltstoffe

Als Thrombozyten-Aktivierungsmarker wurden Plättchenfaktor 4 und ß-Thromboglobulin aus dem abgenommenen Blut mittels ELISA bestimmt. Auch hier wird auf eine beschreibende Erläuterung in Textform verzichtet, um eine Wiederholung zu vermeiden.

3.5.1 Ergebnisse der Plättchenfaktor 4-Messung

Die Mittelwertergebnisse der PF 4-Konzentrationen in der Patienten- und der Kontrollgruppe zeigt Tabelle 6 zu allen drei Messzeitpunkten auf.

	Kontrollgruppe (n=21)		Patientengruppe (n=28)		T-Test	
Plättchenfaktor 4	**Mittelwert IU/ ml**	sd	**Mittelwert IU/ ml**	sd	**t**	p
Messzeitpunkt 1	**16,07**	11,72	**46,95**	35,35	**4,32**	<0,001
Messzeitpunkt 2	**17,22**	11,53	**48,18**	41,54	**3,76**	<0,01
Messzeitpunkt 3	**17,80**	26,34	**46,86**	44,07	**2,87**	<0,01

Tabelle 6: Plättchenfaktor 4

Der ebenso in der Tabelle 6 dargestellte T-Test für unabhängige Stichproben ergibt signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen an allen drei Messzeitpunkten.

Bei der Varianzanalyse findet sich ein signifikanter Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F=14,89; p<0,001). Zu Lasten des Messzeitpunktes findet sich kein signifikanter Unterschied (F= 0,035; p= 0,97), ebenso findet sich kein signifikanter Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit (F= 0,027; p=0,97).

Im Vergleich der einzelnen Messzeitpunkte innerhalb der Gruppen ergeben sich keine signifikanten Veränderungen (p> 0,05).

3.5.2 Ergebnisse der β-Thromboglobulin-Messung

Tabelle 7 zeigt die Mittelwert-Ergebnisse der Konzentrationsmessung des ß-Thromboglobulins für die Patienten- und Kontrollgruppe, sowie die vergleichende Auswertung mittels T-Test.

	Kontrollgruppe (n=21)		Patientengruppe (n=28)		T-Test	
β-Thromboglobulin	**Mittelwert IU/ ml**	sd	**Mittelwert IU/ ml**	sd	**t**	p
Messzeitpunkt 1	**67,88**	37,17	**114,03**	70,05	**2,97**	<0,01
Messzeitpunkt 2	**73,15**	39,97	**114,93**	79,38	**2,41**	<0,05
Messzeitpunkt 3	**55,33**	55,77	**105,41**	87,09	**2,45**	<0,05

Tabelle 7: ß-Thromboglobulin

Der T-Test für unabhängige Stichproben zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen an allen drei Messzeitpunkten auf.

Bei der Varianzanalyse findet sich ein signifikanter Haupteffekt zu Lasten der Gruppenzugehörigkeit (F= 8,20; p< 0,01). Im zeitlichen Verlauf unserer Studie findet sich kein signifikanter Unterschied (F= 1,203; p= 0,31) zu Lasten des

Messzeitpunktes. Ein signifikanter Interaktionseffekt zwischen Messzeitpunkt und Gruppenzugehörigkeit findet sich ebenso nicht ($F= 0,10$; $p= 0,91$).
Im Vergleich der einzelnen Messzeitpunkte innerhalb der Gruppen ergeben sich keine signifikanten Veränderungen ($p> 0,05$).

4 DISKUSSION

Ziel dieser Studie war, die Auswirkungen von psychischem Stress und Angst auf die Thrombozyten als Teil des menschlichen Gerinnungssystems zu erfassen. Dabei galt es, ein Problem zu lösen, mit dem derjenige konfrontiert wird, der sich mit der wissenschaftlichen Analyse von Stress beschäftigt, nämlich die Beziehung zwischen subjektivem Erleben von Stress und wissenschaftlich greifbaren labortechnischen Parametern. Beide Ebenen sind durch den Einsatz von Fragebögen und Laboruntersuchungen objektiv miteinander in Verbindung gesetzt und ausgewertet worden.

Wie in Teilen der Einleitung beschrieben, haben sich mehrere Studien mit der Auswirkung von physischem und psychischem Stress auf die Blutgerinnung beschäftigt, wobei es teils zu gegensätzlichen Aussagen gekommen ist (Känel et al., 2001). Unbestritten ist der wichtige Einfluss der Thrombozyten im Bezug auf Herz-Kreislauferkrankungen (Grau et al., 1998, Zeller et al., 1999, Maree und Fitzgerald, 2004) und dass psychischen Faktoren Einfluss haben (Kawachi et al., 1994).

4.1 Betrachtung der Methodik

4.1.1 Versuchsablauf

Der Versuchablauf sollte eine reproduzierbare mentale Stresssituation erzeugen, die ein ähnliches subjektives Stress-Erleben in einer Gruppe von Testpersonen auslösen würde. Ein weiterer wichtiger Faktor war, dass die Stresssituation, obwohl sie stark Stress fördernd wirken sollte, neben der Kontrollgruppe, auch von den von uns vorgesehenen Patienten mit Angststörungen toleriert werden würde und nicht überdurchschnittlich häufig vor Ende des Ablaufes abgebrochen werden würde.

Es wurde eine mentale Stresssituation gewählt, die das freie Vortragen eines Textes zum Inhalt hatte, da freies Sprechen in der Literatur als stark Stress auslösend beschrieben worden ist (McNair et al., 1982). Ebenso Levine et al. (1985) beschreiben deutlich erhöhte Herz-Kreislaufparameter vor und nach öffentlicher Ansprache zu Beginn des akademischen Jahres bei Medizinstudenten. In

der vorliegenden Arbeit hat kein Patient den Versuch abgebrochen. Eine Patientin weigerte sich den Text frei vorzutragen, stimmte aber einer Blutentnahme zu.
Aufgrund der in der Literatur erworbenen Daten einer möglichen Thrombozyten-aktivierung durch körperliche Aktivität ist diese in der vorliegenden Arbeit gänzlich ausgeschlossen worden. So gibt es mittlerweile eine Reihe von Studien, die eine Zunahme des Aktivitätsniveaus und der Aggregabilität der Thrombozyten mit körperlicher Aktivität in Zusammenhang bringen (Ohri et al., 1983; Hendra et al., 1988; Naesh et al., 1990; Piret et al., 1990).
Broadley et al. (2003) versuchten die Bedeutung normaler körperlicher Aktivität im alltäglichen Leben einzuschätzen. Nach einer 45-minütigen Entspannungsphase, in der sich die Probanden in Rückenlage in ruhiger Umgebung ausruhten, wurden die im Plasma vorliegenden Spiegel an vWF und ß-TG gemessen und der Anteil des P-Selectins auf Thrombozyten bestimmt. P-Selectin lag nach der Entspannungsphase signifikant niedriger vor. Die ß-TG und vWF Werte zeigten hingegen keine signifikanten Unterschiede. In anderen Studien zeigten sich keine signifikanten Unterschiede des Aktivitätszustandes der Thrombozyten vor und nach körperlicher Anstrengung (Mant et al., 1884; Winther et al., 1992).

4.1.2 Durchflusszytometrische Labormethodik

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Durchflusszytometrie eine sensitive und spezifische Methode zur Messung der Thrombozyten-aktivierung ist (Tschöpe et al., 1990; Matzdorff et al., 1996; Michelson, 1996).
Bei jeder durchflusszytometrischen Untersuchung kann eine Inkubation der Thrombozyten ebenso wenig ausgeschlossen werden, wie der ex-vivo Kontakt der Thrombozyten mit fremden Oberflächen und damit eine Zunahme der Voraktivierung. Dieser möglichen Aktivierung ist durch Fixation der Thrombozyten entgegen gesteuert worden. In der Literatur berichteten Cahill et al. (1993) jedoch über eine signifikant größere CD 62- und CD 63- Expression einer fixierten Probe im Vergleich zu einer nicht fixierten Probe. Allein die Fixation sei dafür ausschlaggebend. Dies konnte in durchgeführten Vorversuchen entkräftet werden, da keine übermäßige Plättchenaktivität bei einem ruhenden Kontrollkollektiv gefunden werden konnte. Durch die Fixation wurden die Thrombozyten zumindest zu einem Teil vor einer weiteren Aktivierung durch Kontakt mit Fremdmaterial geschützt. Eine weitere mögliche Thrombozyten-aktivierung kann durch

Zentrifugation des Blutes geschehen (Goodall, 1991). In der Literatur empfehlen mehrere Autoren deshalb die Thrombozytenanalyse aus Vollblut (Abrams und Shattil, 1991; Michelson, 1996), da bei ihrer Präparation die Zentrifugation als Arbeitsschritt komplett wegfällt und damit dieser Teil der artifiziellen in vitro-Aktivierung vermieden werden kann.
Auch dies konnte in durchgeführten Vorversuchen entkräftet werden, da diese in vitro- Aktivierung nur einen geringfügigen Anteil ausmachte.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Patientenkollektiv- Selbsteinschätzung durch STAI und AKV

Das State-Trait-Angstinventar ist in multiplen anderen Studien zur Erfassung der Zustands- und Trait-Angst als überdauerndes und die Persönlichkeit umschreibendes Verfahren angewandt worden (Oei et al, 1990; Bandelow und Hajak, 1995; Choi et al, 2005). Beispielhaft sei auf zwei Studien verwiesen: In Stichprobenuntersuchungen von Ehlers et al. (1986) lag die STAI-Angst bei Panikpatienten bei 52,2 (sd=10,8), bei Patienten mit seltener Panik bei 46,5 (sd= 9,0) und bei Patienten mit anderen Angststörungen bei 46,6 (sd=11,1). Dies entspricht den von uns erworbenen Werten.
Kvaal et al. (2005) überprüften, ob sich das STAI als sinnvolles Instrument erweist, psychische Störungen bei älteren Personen aufzudecken. Als Probanden wurden nicht demente geriatrische Patienten ausgewählt. Die Gruppe ohne psychisch/ psychiatrische Diagnosen lag nach Auswertung bei einem Mittelwert von 39,2. Die Gruppe mit psychisch/ psychiatrischen Diagnosen, wie zum Beispiel Depression und Angststörungen, lag bei einem Wert von 56,3. Diese Werte entsprechen in ihrer Größenordnung den von uns ermittelten und den in der Literatur erhältlichen Werten. Die leichte Abweichung der dargestellten Werte in der Studie von Kvaal et al. (2005) entspricht den Angaben, dass die allgemeine Ängstlichkeit ab einem Alter von 60 Jahren überdurchschnittlich zunimmt (Laux et al., 1981).

Die Auswertung des AKV stellt auch noch einmal eindrücklich dar, dass die Patienten unseres Kollektives im Vergleich zur Normalbevölkerung und zu anderen Personen mit Angststörungen deutlich erhöhte körperbezogene Ängste und ein damit zusammenhängendes erhöhtes Vermeidungsverhalten aufweisen,

mit dem sie nahe an denen von Patienten mit Panikstörungen lagen (Ehlers und Margraf, 1993).

Bezüglich des Fragebogens zu körperbezogenen Ängsten (AKV) finden sich ebenso in unabhängigen Stichproben und Studien vergleichbare Ergebnisse, unterteilt nach BSQ, ACQ und MI.

Für die Angst vor körperlichen Symptomen (BSQ) sei hier auf folgende Studien verwiesen: Chambless et al. (1985) untersuchten 232 Agoraphobiker und fanden einen Mittelwert von 3,05 (sd= 0,85). Sie berichten darüber hinaus, dass Patienten mit Paniksyndrom mit Agoraphobie höhere Werte aufweisen, als Patienten ohne Agoraphobie. Bibb und Chambless (1986) untersuchten 22 Agoraphobiker mit Alkoholmissbrauch (m= 3,1; sd= 0,8) und 20 Agoraphobiker ohne Alkoholmissbrauch (m= 2,5; sd= 0,6). McNally und Lorenz (1987) untersuchten 23 Agoraphobiker vor Behandlung (m= 2,80; sd= 0,67) und nach Behandlung (m= 1,97; sd= 0,73).

Für die Auswertung des Fragebogens zu angstbezogenen Kognitionen (ACQ) sei auf die gleichen Studien zur besseren Vergleichbarkeit verwiesen: Chambless et al. (1985) erhielten bei der Auswertung einen Wert im Mittel von 2,32 (sd= 0,70). Darüber hinaus fanden sie signifikante Korrelationen des ACQ mit dem STAI. Bibb und Chambless (1986) einen von 3,0 (sd= 0,7) und McNally und Lorenz (1987) einen Mittelwert von 2,51 (sd= 0,60) bei Patienten vor und 1,72 (sd= 0,59) bei Patienten nach Behandlung. Ebenso bei der Auswertung des Fragebogens zur Beeinträchtigung der Beweglichkeit finden sich Übereinstimmungen mit in der Literatur vorgegebenen Werten. So ermittelten Chambless et al. (1985) bei Auswertung des Mobilitätsinventars eine Beweglichkeitseinschränkung in der Gruppe der Agoraphobiker, die einem Mittelwert von 3,35 (sd=1,06) entsprach.

Zusammenfassend belegen die Fragebögen, dass es gelungen war, ein Probandenkollektiv zusammenzustellen, welches sich auf einem höheren Angstniveau im alltäglichen Leben befand, als der Durchschnitt der Bevölkerung. Damit war eine der Grundvoraussetzung geschaffen. Die Patientengruppe startete mit der erforderlichen erhöhten Ängstlichkeit gegenüber den Studenten der Kontrollgruppe.

4.2.2 Thrombozytenmembranproteine

4.2.2.1 Thrombozytenmarker CD 62 (P-Selectin) und CD 63

CD 62 und CD 63 sind, wie im Einleitungsteil dargestellt, Thrombozytenmembranproteine, welche bei ruhenden Thrombozyten nicht oder nur in sehr geringem Umfang auf der Oberfläche gefunden werden. Erst bei Aktivierung der Thrombozyten steigt ihr Anteil durch Verschmelzung der Speichergranula mit der Plasmamembran an.

Die Vermutung, dass mentaler Stress in dem hier gewählten Versuchsaufbau zu einem Anstieg der Thrombozytenoberflächenmarker führt, kann mit dieser Arbeit nicht bestätigt werden. Bei der Messung von CD 62 ergibt sich kein Anstieg unter Stressbedingungen, weder in der Patienten- noch in der Kontrollgruppe. Auch liegen die Werte in der Kontrollgruppe zu allen drei Messzeitpunkten über denen der Patientengruppe, was nicht zu erklären ist, da die weiteren gemessenen Parameter (PF 4, ß-TG) für eine deutliche erhöhte Aktivierung der Thrombozyten in der Patientengruppe sprechen. Dies zeigt auf, dass die absoluten Werte von Kontroll- und Patientengruppe im Bezug auf die Oberflächenmarker nicht zwangsläufig verglichen werden können, da beide Gruppen zu unterschiedlichen Zeiten und von verschiedenen Personen gemessen wurden. Nach diesem Ansatz wäre deshalb nur der Verlauf innerhalb der Gruppen vergleichbar. Auch dieser entspricht im Bezug auf CD 62 in beiden Gruppen nicht den erwarteten Ergebnissen. In einer Studie von Lederbogen et al. (2004) wurde die Auswirkung von Stress auf die Aktivität von Thrombozyten anhand des Oberflächenmarkers P-Selectin (CD 62) und GP 53 bei zehn depressiven Patienten gemessen. Stress als Stimulus wurde in mentalen und physikalischen Stress in Form von körperlicher Aktivität unterteilt. Die Auswertung dieser Studie zeigte, dass sowohl bei depressiven Patienten als auch in einer gesunden Kontrollgruppe mentaler Stress zu einem signifikanten Anstieg der Oberflächenmarker führte. Anstrengende körperliche Aktivität führte dagegen nur bei den depressiven Patienten zu einem Anstieg, nicht jedoch im gesunden Kontrollkollektiv. Eine Erklärungsmöglichkeit könnte sein, dass der von uns ausgelöste mentale Stress als Trigger für eine CD 62-Expression nicht ausreichend war. Ein zweiter Erklärungsansatz ist die Überlegung, dass die Thrombozytenaktivierung langsamer als gedacht verlaufen ist und damit in der überprüften Zeitspanne nicht zum Tragen kommt. Um

aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, sollten die Untersuchungen anhand größerer Patientenkollektive überprüft werden.

Bei der Messung von CD 63 ergibt sich ein ähnliches Bild: Wieder liegen die Messwerte der Kontrollgruppe zu allen drei Messzeitpunkten über denen der Patientengruppe. Die Kontrollgruppe zeigt im Verlauf einen, wenn auch nicht signifikanten Anstieg der Werte von der Ausgangs- zur Stresszeitpunktmessung und daraufhin signifikanten Abfall unter Ruhebedingungen. Damit reagiert sie entsprechend der These, dass es unter den akuten Stressbedingungen und der sich anschließenden Entspannung zunächst zu einem Anstieg mit nachfolgendem Abfall der Werte kommt. Dieser signifikante Abfall, der zu Werten unterhalb derer am ersten Messzeitpunkt führt, steht im Einklang mit den für den BSKE-Fragebogen erhaltenen Daten, die ebenso erniedrigte Werte am dritten Messzeitpunkt aufweisen und so eine erniedrigte Anspannung ausdrücken. Diese Werte bestätigen, dass auch die Kontrollgruppe sich erleichtert fühlt, die geforderte Aufgabe gemeistert zu haben.
In der Patientengruppe ist diese Tendenz nicht der Fall, auch wenn die BSKE-Daten einen noch deutlicheren Verlauf im Hinblick allgemeine Anspannung und abschließende Erleichterung aufweisen. Die CD 63-Werte fallen über den Zeitraum des Versuches ab. Ein Erklärungsansatz dieses Abfalls ist die These, dass die Reaktion auf das angekündigte Stressereignis vor dem eigentlichen Versuch zum Tragen kam, zum Beispiel nach Ankündigung am Vortag oder in der Nacht vor dem Versuch. Das Ausmaß der vorher vorhandenen Ängstlichkeit konnte nicht weiter gesteigert werden. Während des eigentlichen Versuchablaufes wurde dann festgestellt, dass die Aufgaben und das Unerwartete gar nicht so schlimm waren und die eigentliche Stressexposition löste keinen weiteren Stress aus, sondern bestätigte eher, eine Aufgabe bewältigen zu können.

4.2.2.2Thrombospondin

Die Thrombospondinmessungen in dieser Arbeit sollten besonders zur Aufklärung einer Langzeitauswirkung von Angststörungen beitragen, mit der Bestätigung oder Widerlegung der These, dass Angststörungen eine dauerhaft erhöhte Trombospondinexpression verursachen. In diese Richtung weisende Ergebnisse können mit dieser Arbeit nicht gefunden werden. So fällt auf, dass die

Thrombospondinwerte in der Kontrollgruppe zu allen Messzeitpunkten über denen der Patientengruppe liegen. In der Kontrollgruppe findet sich korrelierend zum CD 63 ein Anstieg der Thrombospondinwerte zum zweiten Messzeitpunkt hin. Dahingegen zeigt sich im zeitlichen Verlauf in der Patientengruppe bei relativ großen Mittelwertschwankungen, ersichtlich an den Standardabweichungen, ein geringer Abfall und erneuter Anstieg. Auch hier kann der Erklärungsansatz zum Tragen kommen, dass ein möglicherweise vorgezogener Stresszeitpunkt verhindert, dass es zu einer zusätzlichen Aktivierung kommt, trotz der subjektiven stärkeren Wahrnehmung der Rede als Stress. Die größeren Standard-abweichungen zeigen die größere Inhomogenität der Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Einzelne Patienten sind eher und stärker gestresst als andere. In größeren Probandenkollektiven sollte eine Auswertung getrennt nach Respondern und Non-Respondern erfolgen.

4.2.3 Granulainhaltstoffe

4.2.3.1 Plättchenfaktor 4

Anhand der Plasmakonzentration des PF 4 kann auf den Aktivitätsgrad der zirkulierenden Thrombozyten geschlossen werden. Walz (1984) zeigte, dass der Plasmakonzentrationsspiegel nach Aktivierung der Plättchen in vitro um das 10-50- fache ansteigen kann.

Die Kontrollgruppe liegt mit ihren Mittelwerten an den drei Messzeitpunkte über den für den ELISA vorgegebenen Normalwerten. In Vorversuchen an ruhenden gesunden Probanden zeigten sich die Kontrollwerte wie von der Firma angegeben. Damit zeigt die Kontrollgruppe dieser Studie eine erhöhte Plättchenaktivität, die die These bestätigt, dass Stress zu einer Erhöhung der Granulainhaltstoffe führt. Eindrücklich bestätigt wird diese These im Vergleich der Kontroll- mit der Patientengruppe. So ist eine signifikant höhere PF 4-Konzen-tration in der Patientengruppe zu allen Messzeitpunkten gegenüber der Kontroll-gruppe nachweisbar. Dies passt zu den im BSKE-Verlauf erworbenen Werten und zu der Selbsteinschätzung der Patientengruppe durch den STAI und den AKV. Innerhalb der jeweiligen Gruppe kommt es im zeitlichen Verlauf zu einer zunächst geringen Steigerung der PF 4-Konzentration unter der akuten Stressbedingung. Ein geringer anschließender Abfall des PF 4 zeigt sich nur in der Patientengruppe.

Diese Ergebnisse zeigen auf, dass der allgemeine Stresszustand für die Aktivierung der Plättchen ausschlaggebend zu sein scheint und nicht ein kurzer akuter Stressmoment. Ein Erklärungsansatz wäre, dass kurzfristig ausgelöste mentale Stresssituationen gut vom Organismus kompensiert werden können und damit nicht zu einer sofortigen Veränderung des PF 4-Spiegels führen. Der Körper benötigt folglich mehr Zeit, bis sich Veränderungen bemerkbar machen. Diese Vermutung wird zum einen durch die signifikant erhöhten Werte der Patienten- im Vergleich zur Kontrollgruppe bestätigt, zum anderen auch bereits durch die erhöhten Werte der Kontrollgruppe, denn die Teilnehmer wussten ja, dass sie eine noch nicht bekannte Aufgabe zu bewältigen haben würden.

4.2.3.2ß-Thromboglobulin

Da ß-TG von aktivierten Plättchen freigesetzt wird, dient es in mehreren Studien als Indikator des Ausmaßes der Plättchenaggregation. Längere Halbwertszeit, höhere Plasmakonzentration, höhere Antigenität und einfacher zu beherrschende Präparationsbedingungen als für Plättchenfaktor 4, veranlassten Bolton et al. (1976), die Entwicklung eines kommerziellen Radioimmunoassays voranzutreiben. Dieser kam daher vor einem ELISA für PF4 auf den Markt. Ähnlich den, bei der Messung von PF 4 erworbenen Ergebnissen, liegen die Durchschnittswerte der Kontrollgruppe meiner Arbeit über den in der ELISA-Beschreibung vorgegebenen Normwerten. Auch diese sind jedoch in Vorversuchen an ruhenden gesunden Probanden überprüft und bestätigt worden. Damit zeigt sich auch mit der Messung des ß-Thromboglobulin, die erhöhte Ausschüttung der Thrombozyten spezifischen Granulainhaltstoffe aufgrund der Einwirkung von Stress. Der ß-TG-Gehalt liegt in der Patientengruppe zu allen drei Messzeitpunkten signifikant höher, als in der Kontrollgruppe und zu keinem Messzeitpunkt erreichen die Plasma-konzentrationen der Kontrollgruppe den Ausgangs- oder Abschlusspunkt der Patientengruppe. Dies korreliert gut mit den Ergebnissen des PF 4, BSKE und STAI und untermauert die These, dass mit dem Ausmaß des Stresses, die Thrombozytenaktivierung ansteigt. Bei der Messung des ß-TG im zeitlichen Verlauf kommt es, sowohl in der Patienten-, als auch der Kontrollgruppe zu einem nicht signifikanten Anstieg der Plasmakonzentration unter dem Stress der freien Rede und anschließendem Abfall nach Abschluss der Aufgabe. Dieser Abfall führt in beiden Gruppen zu Werten, die unter denen der Plasmakonzentration bei

Versuchsbeginn lagen. Damit zeigt sich, dass ein kurzer Stressmoment ausreicht, eine zunehmende Thrombozytenaktivierung auszulösen, der durch Entspannung jedoch auch schnell wieder entgegen gewirkt werden kann. Die Steigerung ist, wenn auch nur von der Tendenz, sowohl in einem Normalkollektiv als auch in einem Kollektiv mit erhöhter Voraktivierung auslösbar. Anhand der Ergebnisse über den zeitlichen Verlauf und anhand der über die Normwerte erhöhten ß-TG-Werte in der Kontrollgruppe zeigt sich, dass auch diese gestresst und gestresster in den Versuch hinein als hinaus gegangen ist. Dass sich die Patientengruppe auch unter Ruhebedingungen auf einem deutlich erhöhten Plasmakonzentrations-level befindet, zeigt aber auch hier deutlich, dass der allgemeine Stresszustand für den vorliegenden Aktivierungszustand der Thrombozyten entscheidend ist.

4.3 Beantwortung der gestellten Fragen

Zu 1.: Diese Arbeit konnte eindrücklich zeigen, dass signifikante Unterschiede im Bereich der Thrombozytenaktivierung unter Ruhebedingungen zwischen einer gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe von Patienten mit vermehrten Ängsten vorliegen. Dies ergibt sich aus der Auswertung der unter einem erhöhten Aktivierungszustand ausgeschütteten Granulainhaltstoffe (PF 4, ß-TG). Nicht bestätigt werden konnte diese These anhand der Thrombozytenoberflächen-marker (CD 62, CD 63, Thrombospondin).
Auswirkungen auf die Thrombozyten-Oberflächenmarker sollten in Folgestudien anhand größerer Patientenkollektive überprüft werden.

Zu 2.: Die Vermutung, dass akuter psychisch induzierter Stress eine Thrombozytenaktivierung auslöst, die sofort anhand labortechnischer Parameter sichtbar wird, lässt sich signifikant anhand des Thrombospondins innerhalb der Kontrollgruppe bestätigen. Von der Tendenz her zeigt sich innerhalb der Patientengruppe anhand des PF 4 ein Anstieg unter akuten Stressbedingungen und innerhalb der Kontrollgruppe anhand des ß-TGs, PF 4 und CD 63. Auch hier sollte eine Folgestudie mit größeren Patientenkollektiven durchgeführt werden, um die Tendenzen besser beurteilen zu können.

Zu 3.: Es konnten keine sicheren Unterschiede in dem Ausmaß der Thrombozytenaktivierung unter akut hervorgerufenen Stressbedingungen zwischen einer gesunden Kontrollgruppe und einer Gruppe von Patienten mit vermehrten Ängsten gefunden werden. Aus den von uns erhaltenen Werten hinsichtlich des andauernd vorliegenden Stresslevels, welches sich in den signifikant unterschiedlichen Aktivität der Thrombozyten der Patienten- zu der Kontrollgruppe unter Ruhebedingungen widerspiegelt, lässt sich eventuell ableiten, dass der allgemein vorliegende Stresszustand einen größeren Einfluss auf die Thrombozytenaktivierung besitzt als kurzfristig akute Stressbedingungen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war zu klären, ob der Aktivierungszustand der Thrombozyten bei Patienten mit Angststörungen unter Ruhebedingungen auf einem höheren Ausgangslevel liegt, als bei einem gesunden Probandenkollektiv. Darüber hinaus wurde experimentell untersucht, ob der vorliegende Aktivierungszustand durch akuten mentalen Stress gesteigert wird und ob diese Steigerung ein unterschiedliches Ausmaß in den jeweiligen Gruppen aufweist. Die Studiengruppe umfasste 29 PatientInnen, die aufgrund einer Angststörung oder Somatisierungsstörung mit körperbezogenen Ängsten in der Klink für Psychosomatik behandelt wurden. Diese Gruppe befand sich als Ausgangswert auf einem höheren Angstniveau der Zustands- und der allgemeinen Angst, was durch Fragenbögen wie STAI und AKV belegt wurde. Als Kontrollgruppe fungierte eine Gruppe, die sich aus 21 MedizinstudentInnen zusammensetzte. Anhand eines durchgeführten mentalen Stressversuches, der die freie Wiedergabe eines komplizierten Textes unter Stressbedingungen beinhaltete, ließen sich die mentale Entwicklung (Angst, Befürchtungen) anhand des BSKE-Fragebogens, Kreislaufparameter und thrombozytenspezifische Blutparameter anhand der Ausgangswerte und über den zeitlichen Verlauf miteinander vergleichen. Als aktivierungsanzeigende Thrombozytenparameter wurde zum einen der quantitative Anteil der Oberflächenmarker CD 62, CD 63 und Thrombospondin durchflusszytometrisch bestimmt, zum anderen der Anteil der Granulainhaltstoffe PF 4 und ß-TG mittels ELISA. In der Auswertung zeigte sich anhand des BSKE-Fragebogens, dass die Patientengruppe mit signifikant erhöhten Ängsten und Befürchtungen in den Versuch startete als die Kontrollgruppe. Darüber hinaus lagen zu diesem Zeitpunkt bereits signifikant erhöhte Werte, sowohl des PF 4 als auch des ß-TGs, in der Patientengruppe vor. Beide Gruppen zeigten unter Versuchsbedingungen neben einem signifikanten Anstieg des MADs und der Pulsfrequenz von Ruhe- zu Stressbedingungen, auch einen Anstieg und nachfolgenden Abfall der Ängste und Befürchtungen anhand des BSKE-Fragebogens.

Während des Versuchverlaufes konnte die Vermutung, dass akuter Stress eine Erhöhung von PF 4 und ß-TG auslöst, nur in der Patientengruppe von der

Tendenz her bestätigt werden. Von den Oberflächenmarkern zeigte das Thrombospondin in der Patientengruppe einen signifikanten Anstieg unter akuten Stressbedingungen und einen signifikanten Abfall in der nachfolgenden Entspannungssituation.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Abrams CS, Shattil SJ: Immunological detection of activated platelets in clinical disorder. Thromb Haemost 5, 467-473 (1991)
2. Azorsa DO, Hildreth JEK: CD 63 cluster report workshop. In: Schlossmann SF: Leucocyte typing V, 5. Aufl.,1352-1353, Oxford University Press, Oxford, 1995
3. Bandelow B, Hajak G: Angstskalen. In: Kaspers S, Möller HJ: Angst und Panikerkrankungen. 2. Aufl., 439-446, Gustav Fischer, Jena, 1995
4. Begg GS, Pepper DS, Chesterman CN, Morgan FJ: Complete covalent structure of human-ß-thromboglobulin. Biochemistry 17, 1739 (1978)
5. Bibb JL, Chambless DL: Alcohol use and abuse among diagnosed agoraphobics. Behav Res Ther 24, 49-58 (1986)
6. Bolton AE, Lundlam CA, Moore S, Pepper DS, Cash JD: Three approaches to the radioimmunoassay of human beta-thromboglobulin. Br J Haematol 33, 233-238 (1976)
7. Broadley AJ, Gapper P, Schmitt M, Frenneaux MP: Supine rest reduces platelet activation and aggregtion. Platelets 14, 3-7 (2003)
8. Cahill MR, Macey MG, Newland AC: Fixation with formaldehyd induces expression of activation dependent platelet membrane glycoproteins, p-selectin (CD 62) and GP 53 (CD 63). Br J Haematol 84, 527-529 (1993)
9. Chambless DL, Caputo GC, Jasin SE, Gracely EJ, Williams C: The mobility inventory for agoraphobia. Behav Res Ther 23, 35-44 (1985)
10. Chesebro JH, Rauch U, Fuster V, Badimon JJ: Pathogenesis of thrombosis in coronary artery disease. Haemostasis 27, 12-18 (1997)
11. Chignier E, Parise M, Mc Gregor L, Delabre C, Faucompret S, Mc Gregor JA: P-Selectin/ CD 62 monoclonal antibody (LYP-20) in tandem with flow cytometry, detects in vivo activated circulation rat platelets in servere vascular trauma. Thromb Haemost 72, 745-749 (1994)
12. Choi YH, Vincelli F, Riva G, Wiederhold BK, Lee JH, Park KH: Effects of group experiential cognitive therapy for the treatment of panic disorder with agoraphobia. Cyberpsychol Behav 8, 387-393 (2005)

13. Clezardin P, Mc Gregor JL, Lyon M, Clemetson KJ, Huppert J: Characterization of two murine monoclonal (P10, P12) antibodies. Eur J Biochem 154, 95-102 (1986)
14. Collins PW, Macey MG, Cahill MR, Newland AC: Von Willebrand factor and P-Selectin expression is stimulated by thrombin and trypsin but not IL-1 in cultured human endothelian celles. Thromb Haemost 70, 346-350 (1993)
15. Coryell W, Noyes R, Clancy J: Excess mortality in panic disorder. Arch Gen Psychiatry 39, 701–703 (1982)
16. Dawes J, Smith RC, Pepper DS: The release, distribution and clearance of human ß-TG and PF 4. Thromb Res 12, 851-861 (1978)
17. Dilling H, Mombour W, Schmidt MH: Internationale Klassifikation psychischer Störungen, ICD-10 Kapitel V (F), Klinisch Diagnostische Leitlinien. 3.Aufl., 153-195, Verlag Hans Huber, Bern, 1999
18. Dintenfass L, Zador I: Effect of stress and anxiety on thrombus formation and blood viscosity factor. Bibl Haematol 41, 133-139 (1975)
19. Ehlers A und Margraf J: Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV). 1.Aufl., Beltz , Weinheim, 1993
20. Ehlers A, Margraf J, Roth WT: Panik und Angst: Theorie und Forschung zu einer neuen Klassifikation der Angststörungen. Klin Psych 15, 281-302 (1986)
21. Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, Fitzgerald GA: Platelet activation in unstable coronary disease. N Engl J Med 315, 983-989 (1986)
22. Furie B, Celi A, Palabrica TM, Larsen E, Wagner DD, Furie BC: PADGEM, a leukocyte rezeptor on activated platelets. Biology and application to in vivo medical diagnostics. Curr Stud Hematol Blood Transfus 58, 32-36 (1991)
23. Gawaz M: Das Blutplättchen: Physiologie, Pathophysiologie, Membranrezeptoren, antithrombozytäre Wirkstoffe und Therapie bei koronarer Herzerkrankung. 1.Aufl., 20-23,Thieme , Stuttgart, 1999
24. Georg JN, Pickett EB, Saucerman S, McEver RP, Kunicki TJ: Platelet surface glycoproteins. Studies on resting and activated platelet membrane microparticles and observations in patients during adult respiratory disstress syndrom and cardiac surgery. J Clin Invest 78, 340 (1986)

25. Givan LA: Flow cytometry: First principles. 1. Aufl., Wiley Liss, New York, 1992
26. Goodall AH: Platelet activation during preparation and storage of concentrates: detection by flow cytometry. Blood Coagul Fibrinolysis 2, 377-382 (1991)
27. Grau AJ, Ruf A, Vogt A, Lichy C, Buggle F, Patscheke H, Hacke W: Increased fraction of circulating activated platelets in acute and previous cerebrovascular ischemia. Thromb Haemost 80, 298-301 (1998)
28. Haines AP, Imeson JD, Meade TW. Phobic anxiety and ischemic heart disease. BMJ 295, 297–299 (1987)
29. Haft JI, Arkel YS: Effects of emotional stress on platelet aggregation in humans. Chest 70, 501-505 (1976)
30. Hemingway H, Marmot M: Evidence based cardiology: Psychosocial factors in the aetiology and prognosis of coronary heart disease. Systematic review of prospective cohort studies. BMJ 318, 1460-1467 (1999)
31. Hendra TJ, Oughton J, Smith CCT, Betteridge DJ, Yudkin JS: Exercise-induced changes in platelet aggregation; A comparison of whole blood and platelet rich plasma techniques. Thromb Res 52, 443-451 (1998)
32. Hofbrand AV, Pettit JE, Hoelzer D: Thrombozyten, Blutgerinnung und Blutstillung. In: Roche Grundkurs Hämatologie. 1. Aufl., 320-340, Blackwell Wissenschaft, Berlin, 1997
33. Inoue T, Hoshi K, Fujito T, Sakai Y, Morooka S, Sohma R: Early detection of platelet activation after coronary angioplasty. Coron Artery Dis 7, 529-534 (1996)
34. Janke W, Erdmann G, Hüppe M, Debus G: Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE). Institutsbericht, Psychologisches Institut, Würzburg/Berlin, 1999
35. Känel R von, Kudielka BM, Schulze R, Gander ML, Fischer JE: Hypercoagulability in working men and women with high levels of panic-like anxiety. Psychther Psychosom 73, 353-360 (2004)
36. Känel R von, Mills PJ, Fainman C, Dimsdale JE: Effects of psychological stress and psychiatric disorders on blood coagulation and fibrinolysis: A biobehavioral pathway to coronary artery disease? Psychosom Med 63, 531-544 (2001)

37. Kawachi I, Colditz GA, Ascherio A, Rimm EB, Giovannucci E, Stampfer MJ, Willett WC: Prospective study of phobic anxiety and risk of coronary heart disease in men. Circulation 89, 1992-1997 (1994)
38. Kolarov P, Tschöpe D, Niewenhuis HK, Gries FA, Strauer BE, Schultheiß HP: PTCA: Periprocedural platelet activation- Part II of the Duesseldorf PTCA platelet study. Eur Heart J 17, 1216-1222 (1996)
39. Kubzansky LD, Kawachi I, Spiro A III, Weiss ST, Vokonas PT, Sparrow D: Is worrying bad for your heart? A prospective study of worry and coronary heart disease in the normative aging study. Circulation 95, 818–824 (1997)
40. Kvaal K, Ulstein I, Nordhus IH, Engedal K: The Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI): the state scale in detecting mental disorders in geriatric patients. Int J Geriatr Psychiatry 20, 629-34 (2005)
41. Lane DA, Pejler G, Flynn AM, Thompson EA, Lindahl U: Neutralization of heparin-related saccharides by histidine-rich glycoprotein and platelet factor 4. J Biol Chem 261, 3980-3986 (1986)
42. Laux L, Glanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD: Statistische Kennwerte In: Laux L, Glanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD: Das State-Trait-Angstinventar: Theoretische Grundlagen und Handanweisung. 1. Aufl., 22-31, Beltz, Weinheim, 1981
43. Lederbogen F, Baranyai R, Gilles M, Menart-Houtermans B, Tschoepe D, Deuschle M: Effect of mental and physical stress on platelet activation markers in depressed patients and healthy subjects: a pilot study. Psychiatry Res 127, 55-64 (2004)
44. Legrand C, Dubernard V, Kieffer N, Nurden AT: Use of monoclonal antibody to measure the surface expression of thrombospondin following platelet actvation. Eur J Biochem 171, 393-399 (1988)
45. Levine SP, Towell BL, Suarez AM, Knieriem LM, Harris MM, Georg JN: Platelet activation and secretion associated with emotional stress. Circulation 71, 1129-1134 (1985)
46. Malkoff SB, Muldoon MF, Zeigler ZR, Manuck SB: Blood platelet responsivity to acute mental stress. Psychosom Med 55, 477-482 (1993)
47. Mant MJ, Kappagoda CT, Quinlan J: Lack of effect of exercise on platelet activation and platelet reactivity. J Appl Physiol 57, 1333-1337 (1984)

48. Maree AO, Fitzgerald DJ: Aspirin and coronary artery disease. Throm Haemost 92, 1175-1181 (2004)
49. Markovitz JH, Matthews KA, Kiss J, Smitherman TC: Effects of hostility on platelet reactivity to psychological stress in coronary heart disease patients and in healthy controls. Psychosom Med 58, 143-149 (1996)
50. Matzdorff AC, Kemkes-Mathes B, Voss R, Pralle H: Comparison of ß-thromboglobulin, flow cytometry and platelet aggregometry to study platelet activation. Haemostasis 26, 98-105 (1996)
51. McLaren KM: Immunohistochemical localisation of thrombospondin in human megekaryocytes and platelets. J Clin Pathol 36, 197-199 (1983)
52. McNair DM, Frankenthaler LM, Czerlinsky T, White TW, Sasson S, Seymor F: Simulated public speaking as a model of clinical anxiety. Psychopharmakology 77, 7-10 (1982)
53. McNally R J, Lorenz M: Anxiety sensitivity in agoraphobics. J Behav Ther Exp Psychiatry 18, 3-11 (1987)
54. McNicol A: Platelet preparation and estimation of functiol responses. In: Watson SP, Authi KS: Platelets. A practical approach. 1. Aufl., 1-26, Oxford University Press, Oxford, 1996
55. Metzelaar MJ, Clevers HC: Lysosomal membrane glycoproteins in platelets. Thromb Haemost 68, 378-382 (1992)
56. Meetzelaar MJ, Korteweg J, Sixma JJ, Niewenhuis HK: Comparison of platelet membrane markers for the detection of platelet activation in vitro and during platelet storage and cardiopulmonary bypass surgery. J Lab Clin Med 1214, 579-587 (1993)
57. Metzelaar MJ, Schuurman HJ, Heijnen HF, Sixma JJ, Niewenhuis: Biochemical and immunohistochemical characteristics of CD 62 and CD 63 monoclonal antibodies. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 61, 269-277 (1991a)
58. Metzelaar MJ, Wijngard PLJ, Peters JJ, Sixma JJ, Niewenhuis HK, Clevers HC: CD 63 antigen. J Biol Chem 226, 3239-3245 (1991b)
59. Michelson AD: Flow cytometry: A clinical test of platelet function. Blood 87, 4925-4936 (1996)
60. Michelson AD, Barnard MR, Hechtman HB, McGregor H, Conolly RJ, Loscalzol J, Valeri CR: In vivo tracking of platelets: circulating degranulated

rapidly lose surface P-Selectin but continue to circulation and function. Proc Natl Acad Sci USA 93, 11877-11882 (1996)

61. Michelson AD, Shattil SJ: The use of flow cytometry to study platelet activation. In: Watson SP, Authi KS: Platelets. A practical approach. 1. Aufl., 111-129, Oxford University Press, Oxford, 1996
62. Monroe DM, Hoffmann M, Roberts HR: Platelets and thrombin generation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 22, 1381-1389 (2002)
63. Mustard JF, Perry DW, Ardlie NG, Packham MA: Preparations of suspensions of washed platelets from humans. Br J Haematol 22, 193-204 (1972)
64. Naesh O, Hindeberg I, Trap-Jensen J, Lund JO: Post-exercise platelet activation- aggregation and release in relation to dynamic exercise. Clin Physiol 10, 221-230 (1990)
65. Niewenhuis HK, van Oosterhout JJG, Rozemuller E, van Iwaarden F, Sixma JJ: Studies with a monoclonal antibody against activated platelets: Evidence that a secreted 53,000. molecular weight lysosome-like granule protein is exposed on the surface of activated platelets in circulation. Blood 70, 838-845 (1987)
66. Niewiarowski S, Lowery CT, Hawiger J, Millman M, Timmons S: Immunoassay of human platelet factor 4 (PF 4, antiheparin factor) by radial immundiffusion. J Lab Clin Med 87, 720-733 (1976)
67. Nurden AT, Nurden P: A review of the role of platelet membrane glycoproteins in the platelet-vessel wall interaction. Baillieres Clin Haematol 6, 653-690 (1993)
68. Oei TP, Evans L, Crook GM: Utility and validity of the STAI with anxiety disorder patients. Br J Clin Psychol 29, 429-432 (1990)
69. Ohri VC, Chatterji JC, Das BK, Akhtar M, Tewari SC, Bhattacharji P, Behl A: Effect of submaximal exercise on haematocrit, platelet count, platelet aggregation and blood fibrinogen levels. J Sports Med Phys Fitness 23, 127-130 (1983)
70. Patterson SM, Krantz DS, Gottdiener JS, Hecht G, Vargot S, Goldstein DS: Prothrombotic effects of environmental stress: change in platelet function, hematocrit, and total plasma protein. Psychosom Med 57, 592-599 (1995)

71. Patterson SM, Zakowski SG, Hall MH, Cohen L, Wollmann K, Baum A. Psychological stress and platelet activation: differences in platelet reactivity in healthy men during active and passive stressors. Health Psychol 13, 34-38 (1994)
72. Piret A, Niset G, Depiesse E, Wyns W, Boeynaems JM, Poortmans J, Degre S: Increased platelet aggregability and prostacyclin biosynthesis induced by physical exercise. Thromb Res 57, 685-695 (1990)
73. Raffael A, Nebe CT, Valet G: Grundlagen der Durchflusszytometrie. In: Schmitz G, Rothe G: Durchflusszytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. 1. Aufl., 3-49, Schattauer, Stuttgart, 1994
74. Rosenfeld BA, Faraday N, Campbell D, Dise K, Bell W, Goldschmidt P: Hemostatic effects of stress hormone infusion. Anesthesiology 81, 1116-1126 (1994)
75. Rosenfeld BA, Nguyen ND, Sung I, Faraday N: Neuroendocrine stress hormones do not recreate the postoperative hypercoagulable state. Anesth Analg 86, 640-645 (1998)
76. Rozanski A, Blumenthal JA, Kaplan J: Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implication for therapy. Circulation 99, 2192-2217 (1999)
77. Scharf RE: Thrombozytäres System. In: Ostendorf PC, Seeber S: Hämatologie, Onkologie, 1. Aufl., 50-64, Urban & Schwarzenberg, München, 1997
78. Schultheiß HP, Tschoepe D, Esser J, Schwippert B, Roesen P, Nieuwenhuis HK, Schmidt-Soltau C, Strauer B: Large platelets continue to circulate in an activated state after myocardial infarction. Eur J Clin Invest 24, 243-247 (1994)
79. Selye H: Stress, Bewältigung und Lebensgewinn. 1.Aufl., 97-117, Piper, München, 1974
80. Sheps DS, McMahon RP, Becker L, Carney RM, Freedland KE, Cohen JD, Sheffield D, Goldberg AD, Ketterer MW, Pepine CJ, Raczynski JM, Light K, Krantz DS, Stone PH, Knatterud GL, Kaufmann PG: Mental stress-induced ischemia and all-cause mortality in patients with coronary artery disease: Results from the psychophysiological investigations of myocardial ischemia study. Circulation 105, 1780-1784 (2002)

81. Siess W, Lorenz R, Roth P, Weber PC: Plasma catecholamines, platelet aggregation and associated thromboxane formation after pysical exercise, smoking or norepinephrine infusion. Circulation 66, 44-48 (1982)
82. Sloan RP, Shapiro PA, Bagiella E, Bigger JT Jr, Lo ES, Gorman JM: Relationships between circulating catecholamines and low frequency heart period variability as indices of cardiac sympathetic actvity during mental stress. Psychosom Med 58, 25-31 (1996)
83. Spielberger CD: Anxiety: State-trait-process. In Spielberger CD, Sarason IG: Stress and anxiety. 1.Aufl., 131-141, Hemisphere/Willey, Washington, 1975
84. Spielberger CD: Das STAI zur Erfassung von Angst als Zustand und Angst als Eigenschaft. In Laux L, Glanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD: Das State-Trait-Angstinventar: Theoretische Grundlagen und Handanweisung. 1 Aufl., 7-11, Beltz, Weinheim, 1981
85. Strike PC, Steptoe A: Psychosocial factors in the development of coronary artery disease. Prog Cardiovasc Dis 46, 337-347 (2004)
86. Taomoto K, Asada M, Kanazawa Y, Matsumoto S: Usefulness of measurement of plasma ß-TG in cerebrovascular disease, Stroke 14, 518-524 (1983)
87. Tschöpe D: Thrombozytendiagnostik mit durchflusszytometrischen Verfahren. MTA 6, 477-483 (1991)
88. Tschöpe D, Driesch E, Schwippert B, Lampeter EF: Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM. Diabetologia 40, 573-577 (1997)
89. Tschöpe D, Roesen P, Schwippert B, Gries FA: Platelet in diabetes: The role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. Semin Thromb Hemost 19, 122-128 (1993)
90. Tschöpe D, Roesen P, Schwippert B, Kehrel B, Schauseil S, Esser J, Gries FA: Platelet analysis using flowcytometric procedures. Platelets 1, 127-133 (1990)
91. Tschöpe D , Schauseil S, Roesen P, Kaufmann L, Gries FA: Darstellung von Thrombozytenmembranproteinen mit monoklonalen Antikörpern im durchflusszytometrischen Bio-Assay. Klinische Wochenschrift 66, 117-122 (1988)

92. Tschöpe D, Schwippert B: DIII-Assay/ Bestimmung von Aktivierungsmarkern im Durchflusszytometer. In: Schmitz G, Rothe G: Durchflusszytometrie in der klinischen Zelldiagnostik. 1. Aufl., 433-443, Schattauer, Stuttgart, 1994
93. Vester F: Phänomen Stress. 17. Auflage, 15-24, Deutscher Taschenbuch Verlag, München, 2000
94. Wadenvik H, Kutti J: The spleen and pooling of blood cells. Eur J Haematol 41, 1-5 (1988)
95. Walz DA: Platelet released proteins as molecular markers for the activation process. Sem Thromb Hemost 10, 270-279 (1984)
96. Weiss C, Jelkmann W: Funktionen des Blutes. In: Schmidt RF, Thews G: Physiologie des Menschen. 26. Aufl., 411-447, Springer , Berlin, 1995
97. Weissman MM, Markowitz JS, Ouellette R, Greenwald S, Kahn J: Panic disorders and cardiovascular/ cerebrovascular problems: results from a community survey. Am J Psychiatry 147, 1504–1508 (1990)
98. Winther K, Hillegas W, Tofler GH, Jimenez A, Brezinski DA, Schafer AI, Loscalzo J, Williams GH, Muller JE: Effects on platelet aggregation and fibrinolytic activity during upright posture and exercise in healthy men. Am J Cardiol 70, 1051-1055 (1992)
99. Zeller JA, Tschoepe D, Kessler C: Circulating platelets show increased activation in patients wit acute cerebral ischemia. Thromb Haemost 81, 373-377 (1999)

7 ANHANG

7.1 Aufklärungsbogen

Aufklärung zur Teilnahme an der Studie „Gerinnungsaktivierung durch mentalen Stress bei Patienten mit Somatisierungs- und Angststörung“.

Sehr geehrter Patient,
Sie nehmen an einer klinischen Studie teil, in deren Rahmen Sie einmal für ca. zwei Stunden an einem Versuch teilnehmen. Ziel ist es, Veränderungen im Blut zu untersuchen, die durch einen psychischen Faktor hervorgerufen werden.

Ihnen wird bei dieser knapp zweistündigen Sitzung dreimal Blut abgenommen und siebenmal werden Blutdruck- und Pulsmessungen vorgenommen. Körperliche Risiken dieser Untersuchung sind außerordentlich gering, es handelt sich um mögliche Fehlpunktionen bei der Blutentnahme, sowie anschließende Venenentzündungen oder Blutergüsse. Dazu kann es zu Druckschädigungen durch die automatische Blutdruckmanschette am Oberarm kommen. Es ist jedoch nur außerordentlich selten mit diesen Komplikationen zu rechnen.
Im Falle einer Schädigung haftet das Klinikum der Universität Lübeck nach den allgemeinen Haftungsgrundsätzen des Universitätsklinikums (UKL).

Im Rahmen der klinischen Untersuchung werden Ihre Daten ermittelt, wissenschaftlich ausgewertet und nach den gesetzlichen Vorschriften archiviert. Die Bevollmächtigten sind für diese Aufgabe ausgebildet und zur Schweigepflicht verpflichtet. Wir dürfen Ihre Daten nur in anonymer Form weitergeben und keine Kopien oder Abschriften von personenbezogenen Daten herstellen. Auch im Falle der Veröffentlichung der Ergebnisse der klinischen Untersuchung bleibt die Vertraulichkeit Ihrer persönlichen Daten gewährleistet.
Die Beachtung des Bundesdatenschutzgesetzes ist in vollem Umfang sichergestellt. Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie kann jederzeit widerrufen werden.

7.2 Einwilligungserklärung

Ich erkläre mich einverstanden, an der Studie „Gerinnungsaktivierung durch mentalen Stress bei Patienten mit Somatisierungs- und Angststörung“ teilzunehmen. Über die Studienbedingungen bin ich aufgeklärt worden. Ich habe hierzu keine weiteren Fragen.

_____

_____

Name, Vorname Ort, Datum

_____

Unterschrift

7.3 Instruktionsbögen

7.3.1 Instruktionsbogen 1

Während der nächsten 30 min sollten Sie versuchen, sich im Sitzen möglichst zu entspannen.
In dieser Zeit werden wir Ihnen zwei Fragebögen aushändigen, die Sie bitte ausfüllen.
Nach 30 min werden wir einige Vitalparameter, wie z.B. Blutdruck und Puls, ableiten.
Danach entnehmen wir Ihnen 19,0 ml Blut.

Mehr kommt in dieser Zeit nicht auf Sie zu.

7.3.2 Instruktionsbogen 2

Ihre Aufgabe besteht darin, eine 10-minütige Rede zu halten,
welche auf Video aufgezeichnet wird.
Beurteilt werden die Art der Präsentation, wie Rhetorik, Mimik und Gestik, inhaltliche Klarheit und Richtigkeit.

Dazu wird Ihnen gleich ein Text ausgehändigt, den Sie bitte während der nächsten 30 min durcharbeiten.
Sie sollten danach in der Lage sein, den Inhalt frei zu präsentieren und Ihre eigene Meinung zu diesem Thema zu vertreten.
Die Redezeit sollte nicht über- oder unterschritten werden.

Bei der Redevorbereitung stehen Ihnen keinerlei Hilfsmittel zur Verfügung.
Es ist auch nicht erlaubt, sich irgendwelche Notizen zu machen.

Die Beurteilung Ihrer Rede erfolgt durch qualifizierte Beobachter, sowie durch Begutachtung des Vidoematerials.

Vitalparameter werden während der 30-minütigen Vorbereitungszeit gemessen. Unmittelbar zu Redebeginn erfolgt eine zweite Blutentnahme.

7.3.3 Instruktionsbogen 3

Während der nächsten 30 min sollten Sie versuchen, sich im Sitzen möglichst wieder zu entspannen.
In dieser Zeit werden wir Ihnen einen weiteren Fragebogen austeilen, den Sie bitte ausfüllen.
Danach entnehmen wir ein letztes Mal 19,0 ml Blut.
Dann haben Sie es geschafft.

Vielen herzlichen Dank für Ihre Mitarbeit

7.4 Versuchsprotokoll

Versuchsprotokoll

Name, Vorname _____ Geburtsdatum _____ Datum _____

Phase I

Uhr Zeit	t	Handlung						Erledigt
	0	Instruktionsbogen aushändigen						
		Fragebögen (Soziodem. und Angst) aushändigen						
	25	Fragebogen „Subjektive Streßwahrnehmung“ aushändigen						
	30	RR:		Puls:		mittl. RR:		

→ 1. Blutentnahme

Besonderheiten: _____

_____

Arm: rechts links

Phase II

Uhr Zeit	t	Handlung						Erledigt
		Instruktionsbogen II aushändigen						
		Text aushändigen						
	10	RR:		Puls:		mittl. RR:		
	20	RR:		Puls:		mittl. RR:		
	25	Streßinduktion						
	30	RR:		Puls:		mittl. RR:		

Phase III

Uhr Zeit	t	Handlung						Erledigt
		Beginn der Rede						
	0,5	RR:		Puls:		mittl. RR:		

→ 2. Blutentnahme

Besonderheiten:_____

_____

Arm: rechts links

Uhr zeit	t	Handlung						Erledigt
		Rest der Rede						
	10	RR:		Puls:		mittl. RR:		

Phase IV

Uhr zeit	t	Handlung						Erledigt
		Instruktionsbogen III						
	30	RR:		Puls:		mittl. RR:		

→ 3. Blutentnahme

Besonderheiten:_____

_____

Arm: rechts links

Uhr zeit	t	Handlung	Erledigt
		Retrospektive Streßwahrnehmung	

7.5 Fragebögen

7.5.1 Probandenangaben- soziodemographische Daten

Probandenangaben - soziodemographische Daten

1. Name: _____ **Datum** _____

Vorname: _____ **Probandennummer:** _____

Wohnort: _____
(Postleitzahl)

1.1 Ihr Geschlecht?

☐ männlich
☐ weiblich

1.2 Ihr Geburtsdatum?

_____

1.3 Welcher Nationalität gehören sie an?

☐ Deutsch
☐ Deutscher Übersiedler /Spätaussiedler
(Jahr der Übersiedlung): _____
☐ andere Nationalität: _____
(Internationales Autokennzeichen)

oder .....

1.4 Wie ist ihr aktueller Familienstand?
(Mehrfachankreuzungen sind möglich)

☐ ledig
☐ verheiratet
☐ getrennt lebend
☐ geschieden
☐ verwitwet
☐ wieder verheiratet

1.5 In welcher Partnersituation leben Sie?

☐ kurzfristig kein Partner
☐ langfristig/dauerhaft kein Partner
☐ wechselnder Partner
☐ fester Partner (Ehepaar)
☐ fester Partner (nicht Ehepaar)

1.6 In wessen Haushalt leben Sie?

☐ versorgt im Haushalt der Eltern
☐ mit Eltern oder Schwiegereltern gemeinsam
☐ eigener Haushalt (mit Partner, eigener Familie etc.)
☐ Wohngemeinschaft
☐ sonstiger Haushalt

1.7 Wie ist ihre Wohnsituation (1.Wohnsitz)?

☐ Privatwohnung, möbl. Zimmer, Wohnungsgemeinschaft
☐ betreutes Einzelwohnen/betreute Wohngruppe
☐ therapeutisches/psychiatr./gerontopsychiatr. Heim,
Heim für Behinderte (Übergangs-)Wohnheim, Nachtklinik
☐ Altenwohnheim/Altenpflegeheim
☐ sonstiges nicht therapeutisches Heim z.B. Studentenwohnheim, Aussiedlerwohnheim
☐ psychiatrisches Krankenhaus
☐ Justizvollzugsanstalt
☐ ohne festen Wohnsitz
☐ sonstige/unklar/unbekannt

1.8 Welchen höchsten Schulabschluß haben Sie? (Bei Ausbildung im Ausland bitte Vergleichbares wählen)

☐ noch in der Schule
☐ kein Schulabschluß
☐ Sonderschulabschluß
☐ Hauptschul-/Volksschulabschluß
☐ Realschulabschluß/mittlere Reife/polytechn. Oberschule
☐ Fachabitur/Abitur
☐ sonstiges

1.9 Welchen höchsten Berufsabschluß haben Sie?

- ☐ noch in der Berufsausbildung
- ☐ Lehre/Fachschule
- ☐ Meister
- ☐ Fachhochschule Universität
- ☐ sonstiges

1.10 Wie lautet Ihr letzter (oder zuletzt ausgeübter) Beruf?

- ☐ un-/angelernter Arbeiter
- ☐ Facharbeiter, nicht selbst. Handwerker
- ☐ einfacher Angestellter/Beamter
- ☐ mittlerer Angestellter/Beamter im mittleren Dienst
- ☐ höher qualifizierter Angestellter, Beamter im gehobenen Dienst
- ☐ hochqualifizierter/ltd. Angestellter, Beamter im höheren Dienst
- ☐ selbst. Handwerker, Landwirt, Gewerbetreibender (kleiner Betrieb)
- ☐ selbst. Handwerker, Landwirt, Gewerbetreibender (mittlerer Betrieb)
- ☐ selbst. Akademiker, Freiberufler, größerer Unternehmer
- ☐ nie erwerbstätig
- ☐ unbekannt/unklar

1.11 Wie ist Ihre jetzige berufliche Situation?

- ☐ berufstätig, Vollzeit
- ☐ berufstätig, Teilzeit
- ☐ berufstätig , gelegentlich
- ☐ mithelfender Familienangehöriger, nicht berufstätig
- ☐ Hausfrau/-mann, nicht berufstätig
- ☐ Ausbildung
- ☐ Wehr-/Zivildienst/freiwilliges soziales Jahr
- ☐ beschützt beschäftigt
- ☐ arbeitslos gemeldet
- ☐ Erwerbs-/Berufsunfähigkeitsrente
  - ☐ auf Dauer
  - ☐ auf Zeit
- ☐ Frührente/Altersrente/Pension
- ☐ Witwen/Witwer-Rente
- ☐ anderweitig ohne berufliche Beschäftigung
- ☐ unbekannt/unklar

1.12 Sind Sie derzeit arbeitsunfähig? Wenn ja, seit wie vielen Wochen ununterbrochen?

- ☐ keine Arbeitsunfähigkeit
- ☐ unbekannt
- ☐ Wochen _____

1.14 Gibt es ein laufendes Rentenverfahren?

- ☐ nein
- ☐ Rentenantrag
- ☐ Rentenstreit/Sozialgerichtsverfahren
- ☐ Zeitrente

Vielen Dank!

7.5.2 State-Trait-Angstinventar (STAI)

Fragebogen zur Selbstbeschreibung **STAI-G Form X 1**

Name _____ Mädchenname _____

Vorname _____ Geburtsdatum _____ Alter _____ Jahre

Beruf _____ Geschlecht m/w

Datum _____ Institution _____

Uhrzeit _____

Anleitung: Im folgenden Fragebogen finden Sie eine Reihe von Feststellungen, mit denen man sich selbst beschreiben kann. Bitte lesen Sie jede Feststellung durch und wählen Sie aus den vier Antworten diejenige aus, die angibt, wie Sie sich **jetzt,** d. h. **in diesem Moment,** fühlen. Kreuzen Sie bitte bei jeder Feststellung die Zahl unter der von Ihnen gewählten Antwort an. Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten. Überlegen Sie bitte nicht lange und denken Sie daran, diejenige Antwort auszuwählen, die Ihren **augenblicklichen** Gefühlszustand am besten beschreibt.	ÜBERHAUPT NICHT	EIN WENIG	ZIEMLICH	SEHR
1. Ich bin ruhig	1	2	3	4
2. Ich fühle mich geborgen	1	2	3	4
3. Ich fühle mich angespannt	1	2	3	4
4. Ich bin bekümmert	1	2	3	4
5. Ich bin gelöst	1	2	3	4
6. Ich bin aufgeregt	1	2	3	4
7. Ich bin besorgt, daß etwas schiefgehen könnte	1	2	3	4
8. Ich fühle mich ausgeruht	1	2	3	4
9. Ich bin beunruhigt	1	2	3	4
10. Ich fühle mich wohl	1	2	3	4
11. Ich fühle mich selbstsicher	1	2	3	4
12. Ich bin nervös	1	2	3	4
13. Ich bin zappelig	1	2	3	4
14. Ich bin verkrampft	1	2	3	4
15. Ich bin entspannt	1	2	3	4
16. Ich bin zufrieden	1	2	3	4
17. Ich bin besorgt	1	2	3	4
18. Ich bin überreizt	1	2	3	4
19. Ich bin froh	1	2	3	4
20. Ich bin vergnügt	1	2	3	4

Fragebogen zur Selbstbeschreibung — STAI-G Form X 2

Name _____ Mädchenname _____

Vorname _____ Geburtsdatum _____ Alter _____ Jahre

Beruf _____ Geschlecht m/w

Datum _____ Institution _____

Uhrzeit _____

Anleitung: Im folgenden Fragebogen finden Sie eine Reihe von Feststellungen, mit denen man sich selbst beschreiben kann. Bitte lesen Sie jede Feststellung durch und wählen Sie aus den vier Antworten diejenige aus, die angibt, wie Sie sich **im allgemeinen** fühlen. Kreuzen Sie bitte bei jeder Feststellung die Zahl unter der von Ihnen gewählten Antwort an. Es gibt keine richtigen oder falschen Antworten. Überlegen Sie bitte nicht lange und denken Sie daran, diejenige Antwort auszuwählen, die am besten beschreibt, wie Sie sich im **allgemeinen** fühlen.	FAST NIE	MANCHMAL	OFT	FAST IMMER
21. Ich bin vergnügt	1	2	3	4
22. Ich werde schnell müde	1	2	3	4
23. Mir ist zum Weinen zumute	1	2	3	4
24. Ich glaube, mir geht es schlechter als anderen Leuten	1	2	3	4
25. Ich verpasse günstige Gelegenheiten, weil ich mich nicht schnell genug entscheiden kann	1	2	3	4
26. Ich fühle mich ausgeruht	1	2	3	4
27. Ich bin ruhig und gelassen	1	2	3	4
28. Ich glaube, daß mir meine Schwierigkeiten über den Kopf wachsen	1	2	3	4
29. Ich mache mir zuviel Gedanken über unwichtige Dinge	1	2	3	4
30. Ich bin glücklich	1	2	3	4
31. Ich neige dazu, alles schwer zu nehmen	1	2	3	4
32. Mir fehlt es an Selbstvertrauen	1	2	3	4
33. Ich fühle mich geborgen	1	2	3	4
34. Ich mache mir Sorgen über mögliches Mißgeschick	1	2	3	4
35. Ich fühle mich niedergeschlagen	1	2	3	4
36. Ich bin zufrieden	1	2	3	4
37. Unwichtige Gedanken gehen mir durch den Kopf und bedrücken mich	1	2	3	4
38. Enttäuschungen nehme ich so schwer, daß ich sie nicht vergessen kann	1	2	3	4
39. Ich bin ausgeglichen	1	2	3	4
40. Ich werde nervös und unruhig, wenn ich an meine derzeitigen Angelegenheiten denke	1	2	3	4

7.5.3 Fragebogen zu körperbezogenen Ängsten, Kognition und Vermeidung (AKV)

7.5.3.1 BSQ

Im Folgenden finden Sie nun eine Liste bestimmter Symptome, die häufig im Zusammenhang mit Beschwerden im Brustraum auftreten. Uns interessiert nun, wie sehr Sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt durch diese Beschwerden beeinträchtigt sind. Bitte geben Sie durch Ankreuzen der entsprechenden Kästchen an, wie sehr Sie die folgenden Körperempfindungen zum gegenwärtigen Zeitpunkt ängstigen und beunruhigen.

Die Körperempfindung beunruhigt und ängstigt mich.

		extrem	sehr	mittelmäßig	ein wenig	gar nicht
1.	Herzklopfen	o	o	o	o	o
2.	Druck oder schweres Gefühl in der Brust.	o	o	o	o	o
3.	Taubheit in Armen und Beinen	o	o	o	o	o
4.	Kribbeln in den Fingerspitzen	o	o	o	o	o
5.	Taubheit in einem anderen Teil des Körpers	o	o	o	o	o
6.	Gefühl, keine Luft zu bekommen	o	o	o	o	o
7.	Schwindel	o	o	o	o	o
8.	Verschwommene oder verzerrte Sicht	o	o	o	o	o
9.	Übelkeit	o	o	o	o	o
10.	Flaues Gefühl im Magen	o	o	o	o	o
11.	Gefühl, einen Stein im Magen zu haben	o	o	o	o	o
12.	Einen Kloß im Hals haben	o	o	o	o	o
13.	Weiche Knie	o	o	o	o	o
14.	Schwitzen	o	o	o	o	o
15.	Trockene Kehle	o	o	o	o	o
16.	Sich desorientiert oder verwirrt fühlen	o	o	o	o	o
17.	Sich abgelöst vom eigenen Körper fühlen	o	o	o	o	o
18.	Andere	o	o	o	o	o
	Bitte angeben:					

7.5.3.2 ACQ

Es folgen nun einige Gedanken oder Ideen, die Ihnen durch den Kopf gehen könnten, wenn Sie nervös oder ängstlich sind. Bitte geben Sie durch Ankreuzen der entsprechenden Kästchen an, wie oft jeder der folgenden Gedanken vorkommt, wenn Sie nervös oder ängstlich sind.

	Der Gedanke kommt vor:	immer	gewöhnlich	Hälfte der Zeit	selten	nie
1.	Ich muß mich gleich übergeben.	o	o	o	o	o
2.	Ich werde in Ohnmacht fallen.	o	o	o	o	o
3.	Ich muß einen Hirntumor haben.	o	o	o	o	o
4.	Ich werde einen Herzanfall bekommen.	o	o	o	o	o
5.	Ich werde ersticken.	o	o	o	o	o
6.	Ich werde mich lächerlich benehmen.	o	o	o	o	o
7.	Ich werde blind werden.	o	o	o	o	o
8.	Ich werde mich nicht kontrollieren können.	o	o	o	o	o
9.	Ich werde jemandem etwas antun.	o	o	o	o	o
10.	Ich werde einen Schlaganfall bekommen.	o	o	o	o	o
11.	Ich werde verrückt werden.	o	o	o	o	o
12.	Ich werde schreien.	o	o	o	o	o
13.	Ich werde Unsinn reden oder stammeln.	o	o	o	o	o
14.	Ich werde vor Angst erstarren.	o	o	o	o	o
15.	Andere Gedanken, die hier nicht aufgeführt sind.	o	o	o	o	o
	Bitte angeben:					

7.5.3.3 MI

Manche Menschen, die unter den oben genannten Beschwerden leiden, berichten, daß sie deretwegen manche Situationen oder Orte vermeiden. Bitte geben Sie im folgenden an, in welchem Ausmaß Sie die unten aufgeführten Situationen und Plätze vermeiden. Geben Sie zum einen das Ausmaß Ihrer Vermeidung an, wenn Sie von einer Person begleitet werden, zu der Sie Vertrauen haben, und zum anderen, wenn Sie allein sind. Benutzen Sie dabei die folgenden Zahlen:

1 = Vermeide ich niemals. 2 = Vermeide ich selten.
3 = Vermeide ich ungefähr die Hälfte der Zeit. 4 = Vermeide ich meistens.
5 = Vermeide ich immer.

Schreiben Sie bitte für jede Situation oder jeden Platz jeweils eine Zahl dafür, dass Sie begleitet werden, und eine Zahl dafür, dass Sie allein sind. Falls eine Situation Sie nicht betrifft, lassen Sie die Zeile leer.

		Allein	In Begleitung
Plätze:			
1.	Kinos oder Theater		
2.	Supermärkte		
3.	Schul- oder Ausbildungsräume		
4.	Kaufhäuser		
5.	Gaststätten		
6.	Museen		
7.	Fahrstühle		
8.	Säle oder Stadien		
9.	Parkhäuser oder –garagen		
10.	Hohe Plätze - wie hoch?		
11.	Geschlossene Räume (z.B. Tunnel)		
12.	Offene Plätze - außen (z.B. Straßen, Höfe)		
13.	- innen (z.B. große Räume, Hallen)		
Fahren mit:			
14.	Bussen		
15.	Zügen		
16.	Untergrundbahnen		
17.	Flugzeugen		
18.	Schiffen		
19.	Autos - überall		
20.	Autos - auf Autobahnen/Landstraßen		
Situationen:			
21.	Schlange stehen		
22.	Brücken überqueren		
23.	Parties, Feste oder Zusammenkünfte		
24.	Auf der Straße gehen		
25.	Zu Hause allein sein		
26.	Weit weg von zu Hause sein		
27.	Menschenmengen		
28.	Andere		
	Welche?:		

7.5.4 Befindlichkeitsskalierung anhand von Kategorien und Eigenschaftswörtern (BSKE)

Name:_____ Vorname:_____

Geschlecht:_____

Alter: _____ Datum: _____ Uhrzeit: _____

Beschreiben Sie anhand der folgenden Begriffe, wie Sie sich augenblicklich fühlen. Entscheiden Sie sich bei jedem Begriff, in welchem Ausmaß er Ihrem augenblicklichen Befinden entspricht. Kreuzen Sie diejenige Zahl an, die für Sie zutrifft.

1. Gefühl der inneren Erregtheit (z.B. erregt, aufgeregt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

2. Gefühl der Energielosigkeit (z.B. energielos, lahm)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

3. Gefühl der Ängstlichkeit (z.B. ängstlich, angsterfüllt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

4. Gefühl der Aggressivität (z.B. aggressiv, angrifflustig)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

5. Gefühl der Aktivität (z.B. aktiv, tatkräftig)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

6. Gefühl der Freude (z.B. freudig, fröhlich)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

7. Gefühl des inneren Ruhigseins (z.B. innerlich ruhig, innerlich ausgeglichen)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

8. Gefühl der Wachheit (z.B. wachsam, aufmerksam)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

9. Gefühl der Mutlosigkeit (z.B. mutlos, pessimistisch)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

10. Gefühl der inneren Spannung (z.B. innerlich gespannt, innerlich angespannt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

11. Gefühl des Ärgers (z.B. ärgerlich, gereizt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

12. Gefühle der Müdigkeit (z.B. müde, schläfrig)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

13. Gefühl de gehobenen Stimmung (z.B. gut gelaunt, heiter)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

14. Gefühl der Besorgtheit (z.B. besorgt, beunruhigt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

15. Gefühl der inneren Entspannung (z.B. entspannt, gelöst)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

16. Gefühl der Traurigkeit (z.B. traurig, betrübt)

0	1	2	3	4	5	6
gar nicht	sehr schwach	schwach	etwas	ziemlich	stark	sehr stark

8 DANKSAGUNG

Mein Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. G. Jantschek für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik durchführen zu können.

Großer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. H.-J. Siemens, der sich viel Zeit und Mühe gemacht hat, besonders den experimentellen Laborabschnitt zu unterstützen und umzusetzen.

Meinen direkten Betreuern Herrn Dr. med. S. Kunzendorf und Herrn Dr. D. Benninghofen möchte ich ebenso besonders danken, da sie sich in allen Abschnitten für ein Weiterkommen der Arbeit eingesetzt haben.

Großer Dank gilt meiner Freundin Claudia Sprickmann für die Begleitung in jetzt schon vielen Lebensphasen und die tatkräftige gemeinsame Arbeit mit den Patienten.

Herrn Prof. Dr. med. T. Wagner danke ich für die Möglichkeit der Nutzung des hämatologischen Labors der Medizinischen Klinik I. Seinen Mitarbeitern gilt mein Dank für die unterstützende Hilfe bei Fragen technischer und inhaltlicher Natur und das freundliche aufnehmende Arbeitsklima.

Ein Dank gilt allen Patientinnen und Patienten, die sich im Rahmen dieser Arbeit haben untersuchen lassen.

Mein besonderer Dank gilt auch meinen Eltern, die mir durch ihre Unterstützung das Studium der Humanmedizin und die Anfertigung dieser Promotionsarbeit erst ermöglicht haben.

Mein unschätzbarer Dank gilt meinem Bruder Lennart für die Hilfe bei Problemen mit der EDV und die liebevolle Motivation, sowie meinem Freund Carsten, der mir während der gesamten Zeit immer zur Seite stand.

9 ERKLÄRUNG

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Psychosomatik/ Medizinische Klinik II der Universität zu Lübeck unter Aufsicht von Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Jantschek durchgeführt.

Die Studie wurde unter dem Titel: "Gerinnungsaktivierung durch mentalen Stress bei Patienten mit Somatisierungs- und Angststörungen" der Ethikkommission vorgelegt und in ihrer Sitzung am 11.12.2001 unter dem Aktenzeichen 01-150 genehmigt.

Ich habe die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die in der Arbeit genannten personellen, technischen und sachlichen Hilfen oder Hilfsmittel verwendet. Wörtlich oder inhaltlich entnommene Zitate aus den benutzten Werken sind als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere nicht vorher oder gleichzeitig andernorts einen Zulassungsantrag gestellt zu haben und habe mich zuvor keinem anderen Promotionsverfahren unterzogen. Die Arbeit wurde keiner anderen Promotionsbehörde im In- oder Ausland vorgelegt.

10 LEBENSLAUF

Angaben zur Person

Name	Annekatrin Asja Ripke
Wohnort	Keplerstr.16, 28203 Bremen
Geburtstag und –ort	19.02.1978 in Bremen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

Berufliche Tätigkeit

Seit 09/2005	Assistenzärztin Allgemein- und Viszeralchirurgie Klinikverbund Bassum/Sulingen

Studium

04/1998-08/2000	Vorklinisches Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln, Abschluss Physikum
08/2000	Studienortwechsel an die Universität Lübeck
08/2001	1.Staatsexamen
03/2004	2.Staatsexamen
05/2005	3.Staatsexamen, Approbation

Praktisches Jahr

04/2004	Innere Medizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Station 41c (Endokrinologie) und Liegendaufnahme
08/2004	Chirurgie, Kantonsspital Bruderholz, Basel, Schweiz
11/2004	Dermatologie, Klinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Famulaturen

02/2001	Innere Medizin, Krankenhaus Weyertal, Köln
08/2001	Neurochirurgie, Praxis Dr. med. Simons, Köln
03/2002	Dermatologie, Klinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
07/2002	Gynäkologie und Geburtshilfe, Marienkrankenhaus, Lübeck
03/2003	Radiologie, Zentralkrankenhaus Mitte, Bremen
09/2003	Pädiatrie, Praxis Dr. med. Ripke, Bremen

Schulausbildung

1984-1988	Grundschule
1988-1990	Orientierungsstufe
1990-1997	Altes Gymnasium Bremen
Juni 1997	Abitur

Auslandsaufenthalt

09/1997-02/1998	Ganztagsbetreuung einer schwerbehinderten Frau mit dyskinetischer Zerebralparese im Rahmen des Europäischen Freiwilligendienstes (EVS), Hereford, England

Dissertation

Seit 11/2001	Experimentelle Studie zur Thrombozytenaktivierung durch psychisch induzierten Stress bei Patienten mit vermehrten Ängsten, Med. Klinik II/ Psychosomatik, Universität zu Lübeck, Doktorvater: PD Dr. med. G. Jantschek
12/2001-02/2003	Zeitraum der experimentellen Untersuchungen