

Aus der Klinik für Herz- und thorakale Gefäßchirurgie

Direktor: Prof. Dr. Ardawan J. Rastan

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Rolle der Matrix-Metalloproteinasen bei der
Mitralklappeninsuffizienz: Assoziation
zwischen der Expression von MMP-1,
MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2, dem
Mitralsuffizienzgrad und der Ätiologie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten
Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt von

Azza Labbene Mansouri

aus Tunis

Marburg, 2019

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am: 24.09.2019

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan: Herr Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Herr Prof. (apl.) Dr. med. Nikolas Mirow

1. Korreferent: Herr PD Dr. C. Haas

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	4
1. Einleitung	8
1.1. Die Mitralklappe: Anatomie, Histologie und Physiologie	10
1.1.1. Anatomie	10
1.1.2. Histologie	11
1.1.3. Physiologie.....	12
1.2. Die Mitralklappeninsuffizienz: Mechanismen und Ätiologie.....	12
1.2.1. Die Degenerative Mitralklappeninsuffizienz	14
1.2.2. Die Mitralklappenendokarditis.....	16
1.3. Mitralklappeninsuffizienzdiagnostik und Beurteilung des Schweregrades	17
1.3.1. Klinische Untersuchung	17
1.3.2. Echokardiographie	17
1.3.3. Herzkatheteruntersuchung.....	20
1.3.4. Laboruntersuchung	20
1.3.5. Weitere Untersuchungen	20
1.4. Die Therapie der Mitralklappeninsuffizienz.....	21
1.4.1. Chirurgische Verfahren	21
1.4.1.1. Die Mitralklappenrekonstruktion	21
1.4.1.2. Der Mitralklappenersatz	22
1.4.2. Interventionelle Behandlung	22
1.5. Die Matrix-Metalloproteasen und ihre Inhibitoren.....	23
1.5.1. Struktur und Klassifikation	23
1.5.2. Regulation der MMPs	24
1.5.3. Funktion der MMPs und TIMPs	24
1.5.4. MMPs und kardiovaskuläre Krankheiten	25
1.5.5. MMPs und die Mitralklappe.....	26
2. Ziel der Arbeit.....	28

3. Patienten, Material und Methoden	29
3.1. Material.....	29
3.1.1. Untersuchungsmaterial	29
3.1.2. Geräte, Chemikalien und Ansätze	29
3.1.2.1. Geräte	29
3.1.2.2. Chemikalien und Ansätze.....	29
3.1.3. Antikörper.....	30
3.2. Methoden.....	31
3.2.1. Gewebeaufbereitung zur HE- und immunhistochemischen Färbung	31
3.2.2. Die Hämatoxylin-Eosin Färbung	31
3.2.3. Immunhistochemie	32
3.2.4. Auswertungsmethode der immunhistochemischen Präparate.....	33
3.2.5 Bildgebung	35
3.2.6 Statistik	35
3.3. Ethikvotum.....	36
3.4. Patienten	36
3.4.1. Geschlecht und Alter.....	36
3.4.2. Komorbiditäten	36
3.4.3. Symptome	38
3.4.4. Echokardiographie	38
3.4.5. Das operative Verfahren	39
3.4.6. Pathologischer Befund	39
3.4.7. Komplikationen und postoperativer Verlauf	40
4. Ergebnisse	42
4.1. Verteilung der Expression von MMPs und ihren Gewebeinhibitoren	42
4.1.1. MMP-1	42
4.1.2. MMP-9	44
4.1.3. TIMP-1	46
4.1.4. TIMP-2	48

4.1.5. Wechselwirkung zwischen den untersuchten MMPs:	50
4.2. Zusammenhang zwischen MMPs und ihren Inhibitoren und dem echokardiographischen Grad der Mitralklappeninsuffizienz	51
4.2.1 MMP-1 und MI-Schweregrad	51
4.2.2. MMP-9 und MI-Schweregrad	52
4.2.3. TIMP-1 und MI-Schweregrad	53
4.2.4. TIMP-2 und MI-Schweregrad	54
4.3. Zusammenhang zwischen MMPs und ihren Inhibitoren und der Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz	55
4.3.1. MMP-1 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz	55
4.3.2. MMP-9 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz	56
4.3.3. TIMP-1 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz	57
4.3.4. TIMP-2 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz	58
4.3.5. Verteilung der MMPs und ihrer Inhibitoren bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz:	59
4.4. Einfluss der Nebendiagnosen auf die Expression von MMPs und deren Inhibitoren ..	59
4.5. Einfluss der Expression von MMPs und deren Inhibitoren auf die postoperativen Komplikationen	60
5. Diskussion	61
5.1. MMPs als Marker des pathologischen Umbaus bei der Mitralklappeninsuffizienz	61
5.2. Die komplexe Rolle der Gewebe-Inhibitoren in der Mitralklappeninsuffizienz	61
5.3. MMPs als Indikator des Schweregrades einer Mitralklappeninsuffizienz	62
5.4. Erhöhter MMP-Nachweis als Beweis einer stärkeren Mitralklappendestruktion bei Endokarditis	64
5.5. MMPs und Nebendiagnosen (art. Hypertonie, KHK, Vorhofflimmern)	65
5.6. Limitationen der Studie	66
5.7. Klinische Aspekte	67
5.8. Ausblick	69
6. Zusammenfassung	71
7. Summary	72

8. Verzeichnisse	73
8.1. Literaturverzeichnis	73
8.2. Abbildungsverzeichnis	85
8.3 Tabellenverzeichnis	87
8.4 Abkürzungsverzeichnis.....	88
9. Anhang	90
9.1 Verzeichnis der akademischen Lehrer	90
9.2 Danksagung	91

1. Einleitung

Die Mitralklappeninsuffizienz ist eine der häufigsten Herzklappenkrankheiten. Aufgrund der altersabhängigen Prävalenz und der demographischen Entwicklung in der Gesellschaft ist eine zunehmende Häufigkeit zu erwarten (Nickenig et al. 2013). In den letzten Jahren nahm das Interesse der Forschung am Thema „Mitralklappeninsuffizienz“ stark zu. Dies führte zu bedeutsamen Fortschritten in den diagnostischen Verfahren und der Entwicklung neuer Therapiealternativen und somit zu einer besseren Versorgung der Patienten.

Das Standardverfahren für die Diagnose der Mitralklappeninsuffizienz ist nach wie vor die Echokardiographie. Diese ermöglicht eine hohe Genauigkeit bei der Beurteilung der erkrankten Klappe. Ein wesentlicher Nachteil dieser Bildgebungsmethode ist jedoch ihre Subjektivität.

Neue Perspektiven für eine objektivere Beurteilung der Mitralklappeninsuffizienz und für das Verständnis der Pathogenese bieten die Matrix-Metalloproteasen. Diese relativ neu entdeckten Proteasen brachten bereits in mehreren Bereichen neue Ansätze für innovative Diagnose- und Therapiemöglichkeiten, wie zum Beispiel in der Onkologie und in der Behandlung bestimmter inflammatorischer Krankheiten (Hidalgo und Eckhardt 2001), (Hu et al. 2007)

Daraus entstand das Interesse an MMPs und ihren Inhibitoren im Bereich der kardiovaskulären Erkrankungen. Hauptsächlich wurde ihre Rolle in der Arteriosklerose und den daraus resultierenden Herzkrankheiten wie z.B. Herzinfarkt (Kelly et al. 2008) intensiv erforscht. Der Zusammenhang zwischen MMPs und Mitralklappenerkrankungen wurde speziell in Hinsicht auf die myxomatöse Klappenkrankheit untersucht, und dabei hauptsächlich in veterinärmedizinischen Arbeiten. Es wurden lediglich wenige humanmedizinische Studien unternommen. Die myxomatöse Klappenerkrankung ist tatsächlich eine häufige Erkrankung bei Hunden und die Rolle der MMPs in diesem Krankheitsbild wurde in zahlreichen Studien untersucht (Ljungvall et al. 2011).

Die myxomatöse Klappenkrankheit ist in der Humanmedizin ebenfalls von großer Bedeutung. Sie ist die häufigste Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz in den Industrieländern (Enriquez-Sarano et al. 2009). Ein Verständnis des gesamten Prozesses der Mitralklappeninsuffizienz mit ihren unterschiedlichen Ätiologien ist für die Entwicklung neuer diagnostischer Verfahren und Therapieprozessen wichtig. Die MMPs und Ihre

Expression in der Mitralklappe können zu diesem ganzheitlichen Verständnis beitragen und dadurch neue Perspektiven in der Diagnose, Prognose und Therapie eröffnen.

1.1. Die Mitralklappe: Anatomie, Histologie und Physiologie

1.1.1. Anatomie

Die Mitralklappe, auch bekannt als Bikuspidalklappe, Valva atrioventricularis sinistra, Valva mitralis oder Valva bicuspidalis ist eine Herzklappe, die sich zwischen dem linken Vorhof und der linken Ventrikel befindet. Die wichtigste Funktion der Mitralklappe besteht darin, während der Kontraktion der Kammer in der Systole den Rückfluss des Blutes in den linken Vorhof zu verhindern.

Die Mitralklappe besteht aus zwei Segeln: dem vorderen Segel (Cuspis anterior) und dem hinteren Segel (Cuspis posterior). Die Segel sind mittels Sehnenfäden (Chordae tendineae) an den Papillarmuskeln (Mm. papillares subauricularis und subatrialis) und somit in den Trabekeln der linken Herzkammer (Ventriculus cordis sinister) befestigt (Gerhard et al. 2010).

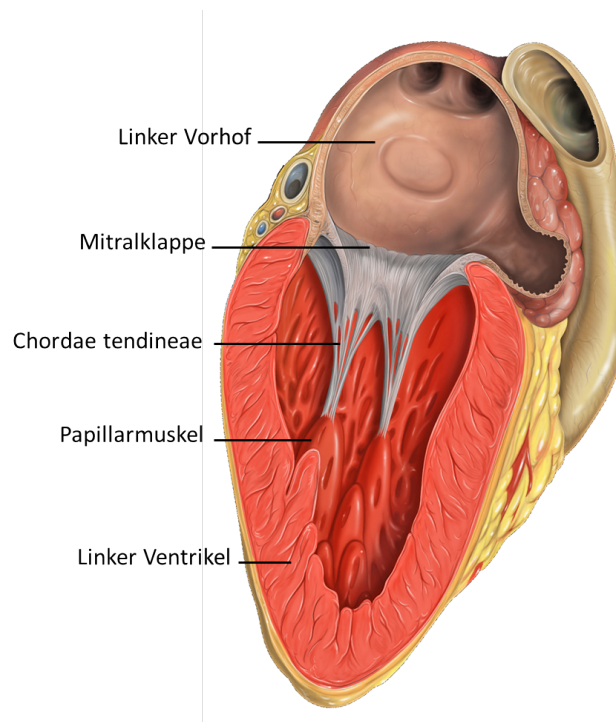


Abbildung 1: Anatomie Der Mitralklappe (modifiziert aus Lynch et al. 2006)

Das vordere Mitralsegel hat eine trapezoide Form und stellt ein Drittel des Anulus-Durchmessers dar. Das hintere Segel mit seiner viereckigen Form füllt die restlichen 2/3 auf. Um die Diagnostik und die Kommunikation aus chirurgischer Perspektive zu vereinfachen, wurden beide Segel in jeweils drei Segmente geteilt: P1, P2 und P3 für das hintere Segel

und A1, A2 und A3 für das vordere. Zwei Kommissuren Verbinden beide Segel: die anterolaterale verbindet A1 und P1 und die posteromediale A3 und P3.

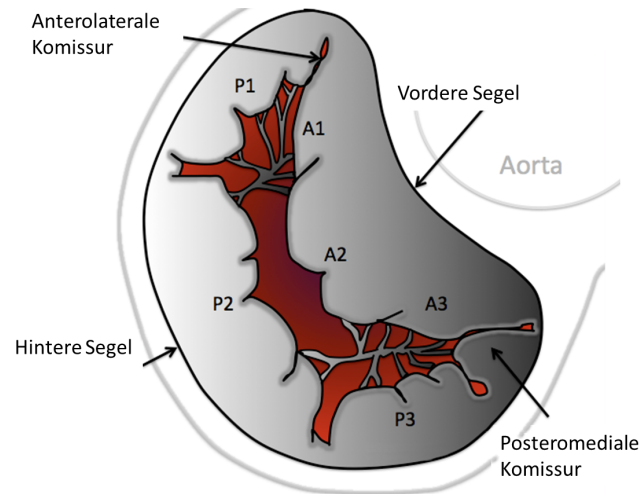


Abbildung 2: schematische Darstellung des Mitralklappenapparats (P1-P3: hintere Segel, A1-A3: vordere Segel) (modifiziert aus R. Koene 2012)

1.1.2. Histologie

Die Mitralklappe hat einen mit dem Endokard vergleichbaren Schichtaufbau (Gerhard et al. 2010). Sie ist, wie alle Herzklappen, reich an Kollagenfasern; enthält aber auch viele elastische Fasern und wird von Endothel überzogen. Die Mitralklappe besitzt keine Muskulatur und keine Blutgefäße. Sie besteht auf der atrialen Seite aus einer lockeren Bindegewebeschicht, die Spongiosa, die Fibroblasten und Makrophagen enthält. Die Spongiosa ist außerdem reich an Hyaluronan und Proteoglykanen. Auf der ventrikulären Seite liegt die Fibrosa. Diese straffe, kollagenreiche Bindegewebeschicht ist mit einem Klappenring (Anulus fibrosus cordi) und mit den Chordae tendineae verbunden (Deller et al. 2014).

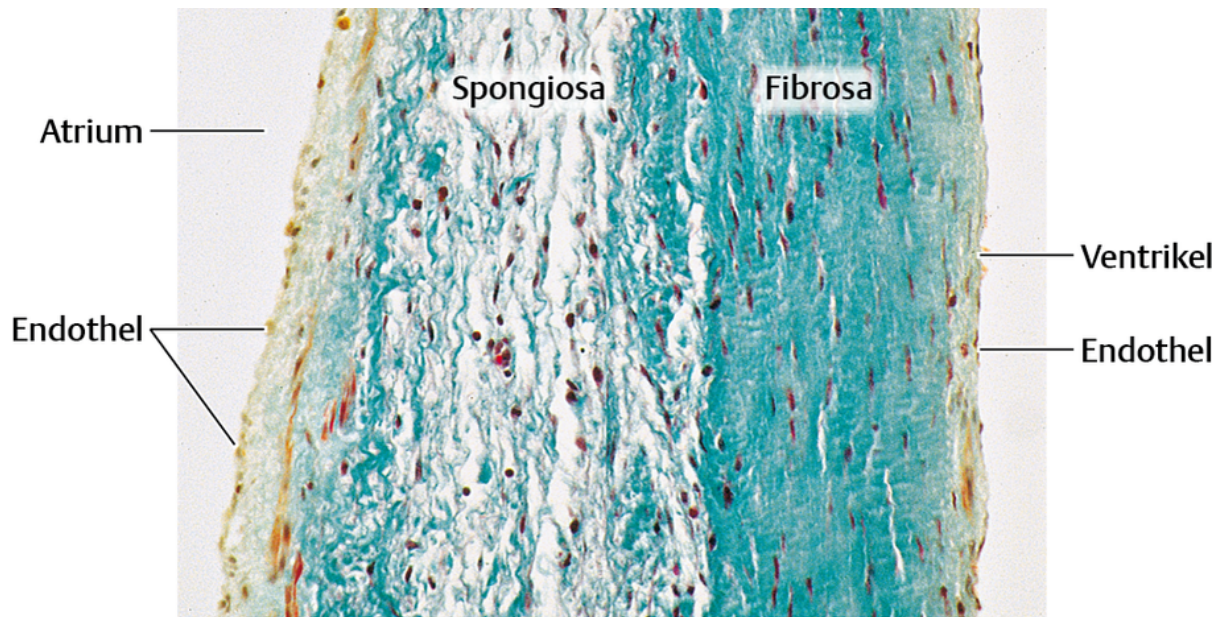


Abbildung 3: Schnitt durch die Mitralklappe eines Schweins. Goldner Färbung (Lüllmann-Rauch 2012)

1.1.3. Physiologie

Die Mitralklappe hat die Funktion eines Ventils zwischen dem linken Vorhof und dem linken Ventrikel des Herzens. Während der Diastole ermöglicht ihre Öffnung den Blut-Einstrom aus dem Vorhof und somit die Füllung des Ventrikels. Eine Erhöhung des Drucks im Ventrikel zu Beginn der Systole führt zum Schluss der Klappe und verhindert den Rückstrom von Blut in den linken Vorhof während der Systole. Synchron zur Ventrikel-Kontraktion ziehen die Papillarmuskeln an den Sehnenfäden und verhindern das Umschlagen der Mitralklappe in den linken Vorhof.

1.2. Die Mitralklappeninsuffizienz: Mechanismen und Ätiologie

Die Mitralklappeninsuffizienz ist nach der Aortenklappenstenose der zweithäufigste Herzklappenfehler in Europa (Klein et al. 1990). Die Prävalenz nimmt aufgrund der demographischen Entwicklung in unserer Gesellschaft deutlich zu (Nickenig et al. 2013).

Die häufigsten Ätiologien der operierten Mitralklappeninsuffizienzen in westlichen Ländern sind die degenerativen Krankheiten (myxomatose Klappe, primärer Mitralklappenprolaps, Kalzifikation des Anulus). Diese machen ca. 60 bis 70% der Fälle aus. Als zweithäufigste Ursache folgt die ischämische Mitralklappeninsuffizienz mit ca. 20%. Jeweils 2 bis 5% der

Fälle sind rheumatischer Natur oder folgen aus einer Endokarditis. Weitere Ursachen wie die idiopathische Kardiomyopathie, Medikamentenwirkung oder kongenitale Zustände sind eher selten (Enriquez-Sarano et al. 2009).

Zur Klassifizierung der Mitralklappeninsuffizienz kommen mehrere Aspekte in Betracht. Neben den Ursachen (z. B. ischämisch oder nichtischämisch), kann die Unterteilung auch nach den Mechanismen oder dem zeitlichen Verlauf erfolgen (G. Nickenig et al. 2013). Es wird grundsätzlich zwischen der akuten und der chronischen Mitralklappeninsuffizienz unterschieden. Die selten auftretende akute Form resultiert in der Regel aus rasch progredienten destrukturierenden Prozessen, z.B. im Rahmen einer bakteriellen Endokarditis, einer akuten Myokardischämie oder eines akuten Thoraxtraumas mit Beteiligung der Klappensegel oder des Klappenhalteapparats (Sehnenfäden oder Papillarmuskeln) (Carpentier A 1983, Olsen et al. 1987).

Die deutlich häufigere chronische Mitralklappeninsuffizienz kann in eine primäre und eine sekundäre Form unterteilt werden. Die primäre Form resultiert in der Regel aus Erkrankungen der Mitralklappe an sich oder des Mitralklappenhalteapparats. Sie kann degenerativ, rheumatisch oder als Folge einer Endokarditis entstehen (Nickenig et al. 2013). Als weitere, eher seltene Ätiologien können kongenitale, traumatische, iatrogene oder inflammatorische Zustände vorkommen (zum Beispiel im Rahmen eines Lupus erythematoses oder einer Kardiomyofibrose).

Die sekundäre, auch als funktionell bekannte, Mitralklappeninsuffizienz wird durch Veränderungen der Geometrie des Mitralklappenapparats im Rahmen pathologischer Umbauprozesse des linken Ventrikels verursacht. Beispiele hierfür sind eine ischämische oder dilatative Kardiomyopathie, eine Myokarditis oder eine lokal begrenzte ischämische linksventrikuläre Dysfunktion. Aus diesen Erkrankungen resultiert sekundär eine Maladaptation der Klappensegel, ohne dass die einzelnen Bestandteile des Mitralklappenapparats, wie im Falle einer primären Mitralklappeninsuffizienz, sich pathologisch verändern. Solche Veränderungen können jedoch im Laufe der Krankheit auftreten, z. B. am Klappenring (Nickenig et al. 2013).

Die ischämische Mitralklappeninsuffizienz ist die meist untersuchte sekundäre Mitralklappenerkrankung. Sie ist eine häufige Komplikation des Herzinfarktes. Der Umbauprozess des linken Ventrikels in der chronischen Phase des Infarktes und die Dilatation des linken Atriums führen zu einer Änderung der Mitralklappengeometrie durch Traktionsphänomene an den Papillarmuskeln und den Sehnenfäden (Silbiger 2013).

In Tabelle 1 wird die Einteilung der Mitralklappeninsuffizienz gemäß der Carpentier-Klassifizierung in Abhängigkeit von der Ätiologie, den Mechanismen und der Segelbewegung präsentiert.

Tabelle 1: Ursachen und Mechanismen der Mitralklappeninsuffizienz gemäß der Carpentier-Klassifikation (Carpentier et al. 1995)

Primär (degenerative bzw. organisch)				Sekundär (funktionell)
	Typ I	Typ II	Typ IIIa	Typ I/Typ IIIb
Nicht ischämisch	Degenerativ	Degenerativ ("flail leaflet")	Rheumatisch (chronisch)	Kardiomyopathie
	Endokarditis (Perforation)	Endokarditis (rupturierte Chordae)	Iatrogen (Bestrahlung, Medikamente)	Myokarditis
	Kongenital (z.B. "cleft")	Traumatisch (rupturierte Chordae, Papillarmuskel)	Inflammatorisch (Lupus, eosinophile Endokarditis, Endomyokardfibrose)	Andere Ursachen der linksventrikulären Dysfunktion
		Rheumatisch (akut)		
Ischämisch		Rupturierter Papillarmuskel		Funktionelle Ischämie
Typ I normale Segelbewegung, Typ II exzessive Segelbewegung, Typ III restriktive Segelbewegung (a: in der Diastole und Systole, b: in der Systole)				

1.2.1. Die Degenerative Mitralklappeninsuffizienz

Die Klappendegeneration ist die häufigste Ätiologie der Klappenerkrankung in den Industrieländern. Bei der Mitralklappeninsuffizienz findet sich hauptsächlich ein myxomatöser Degenerationsprozess, wie zum Beispiel ein Mitralklappenprolaps. Die Sklerose kann in manchen Fällen ebenfalls zur Mitralklappeninsuffizienz führen, zum Beispiel durch die Verringerung der Segelmobilität (Abramowitz et al. 2015)

Beim Mitralklappenprolaps wölben sich die Anteile der Mitralklappe während der Systole in den linken Vorhof vor. Die wichtigsten histomorphologischen Korrelate sind die diffuse myxomatöse Degeneration (auch Morbus Barlow genannt) und der primäre Prolaps mit Ruptur der Chordae tendineae. In 70 % der Fälle ist hierbei das posteriore Segel betroffen (Fornes et al. 1999, Mills et al. 2004).

Bei der „Barlow-Krankheit“ verursachen myxoide Strukturdefekte in der Gewebetextur eine Minderung der Elastizität. Eine exzessive myxomatöse Gewebeproliferation durch pathologische Vermehrung der Matrix-produzierenden interstitiellen Zellen bedingt einen höheren Wasser- und Mucopolysaccharidgehalt im Klappengewebe und bedingt dadurch eine größere Spongiosaschicht. Dazu sind Matrix-Veränderungen erkennbar, wie z.B. die Vermehrung der Kollagen-Fasern (Grande-Allen et al. 2003, Levine et al. 2015). Aufgrund des mit Längenzunahme verbundenen Spannungsverlusts kann sich die Klappe während der Systole in den Vorhof vorwölben. Das erhöhte Pendelvolumen führt zur Ventrikeldilatation und somit zur Verstärkung der Mitralklappeninsuffizienz. Durch eine Ventrikeldilatation verliert auch der Ring im Laufe der Zeit an Stabilität. Die myxomatöse Degeneration kann mit Kalzifikationen assoziiert sein (Anyanwu et al. 2007).

Der primäre Mitralklappenprolaps oder flail leaflet entsteht auch durch den Abriss der ihn haltenden Sehnenfäden bzw. des Papillarmuskels. Dies geschieht hauptsächlich durch den degenerativ bedingten Verlust der Elastizität im Rahmen einer fibroelastische Defizienz (Barber et al. 2001)

Ein sekundärer Mitralklappenprolaps kann mit Bindegewebeerkrankungen wie z.B. Marfan- oder Ehlers-Danlos-Syndrom, Osteogenesis imperfecta oder Pseudoxanthoma elasticum assoziiert sein (Grau et al. 2007).

Eine weitere Ursache der Mitralklappeninsuffizienz ist die langsame progressive Sklerosierung der Klappe. Ihre Ränder werden aufgerollt, wodurch die Klappenoberfläche verkleinert wird. Diese Verkalkung bleibt in 77% der Fälle am Anulus lokalisiert (Carpentier et al. 1996) und wird durch eine progressive Akkumulation von Kalzium entlang und unter dem Anulus verursacht (Fulkerson et al. 1979). Da die Mitralsegel in den meisten Fällen ausgespart bleiben, hat die Anulus-Verkalkung wenig Einfluss auf die Funktion der Mitralklappe. Eine ausgeprägte Verkalkung kann jedoch zur Mitralklappeninsuffizienz führen. Eine Infiltration von Kalzium ins posteriore Segel verringert dessen Mobilität und erhöht die Traktion auf die Chordae tendineae. Dies führt zur Elongation sowie in extremen Fällen zur Ruptur der Chordae (Abramowitz et al. 2015)

Die Anulus-Kalzifikation wird als ein chronisch degenerativer, nicht inflammatorischer und altersabhängiger Prozess beschrieben. Die Prävalenz von Mitralklappenkalzifikation beträgt 9% (Abramowitz et al. 2015). Die Anulus-Verkalkung ist ein häufiger Befund bei älteren Erwachsenen und die Prävalenz der Anulusverkalkung nimmt mit dem Alter zu (Aronow und Kronzon 1987).

Die Atherosklerose spielt außerdem eine Rolle in der Mitralklappensklerose. Die starke Assoziation zwischen der Verkalkung der Mitralklappe und der kardiovaskulären Risikofaktoren deuten darauf hin, dass beide unterschiedliche Formen derselben Erkrankung sind (Roberts 1986)

Eine Erhöhung der mechanischen Belastung der Mitralklappe durch zum Beispiel eine arterielle Hypertonie, eine Aortenklappenstenose oder eine hypertrophische Kardiomyopathie führt auch zu einer Kalzifikation der Klappe (Nestico et al. 1984).

1.2.2. Die Mitralklappenendokarditis

Die Endokarditis der Herzklappen ist eine infektiöse Erkrankung die durch einen Streuherd im Bereich des Endokards bzw. der Herzklappen bedingt sein kann und mitunter eine septische Erkrankung verursachen kann. Die am zweithäufigsten befallene Nativklappe nach der Aortenklappe ist die Mitralklappe (Heiner et al. 2010). Eine bakterielle Absiedelung führt zu Entzündung, Nekrose, Ulzerationen und thrombotischen Auflagerungen. Dies führt zur Schädigung der Klappe und somit zur Insuffizienz. Am meisten tritt die infektiöse Endokarditis an bereits auf kongenitaler oder degenerativ erworbener Basis (Sullam et al. 1985) vorgeschädigten Klappen auf. Die Endokarditis verursacht eine lokale Destruktion der Mitralklappe sowie die Entstehung von Auflagerungen („Vegetationen“) und kann zur Ruptur der Chordae tendineae und somit zur Mitralklappeninsuffizienz führen. Zusätzlich kann es bei der Endokarditis zu Embolisierungen der Vegetationen in die Gefäßperipherie und zu Gewebeinfarkten kommen (Herold 2016).

Die häufigsten verursachenden Erreger sind Staphylokokken, Streptokokken und Enterokokken. Weitere Erreger wie z.B. Coxiella burnetii, Chlamydien, Mykoplasmen, Legionellen oder Pilze wurden selten nachgewiesen. Bei 4 bis 10% aller Endokarditiden bleibt der Erreger unbekannt (Naber 2004).

Die Endokarditis ist eine selbstständige Krankheit mit variabler klinischer Symptomatik, sehr unterschiedlichen klinischen Verläufen und multiplen Organmanifestationen. Die Blutkultur spielt in der Sicherung der Diagnose, zusammen mit der Echokardiographie, eine wichtige Rolle (Habib et al. 2015). Die Therapie der Endokarditis basiert auf einer kalkulierten Antibiotikatherapie. Bei unkontrollierter Infektion, perivalvulären Abszessen und/oder schwerer Klappensysfunktion ist eine zusätzliche operative Sanierung indiziert (Delahaye et al. 2004). Durch eine interdisziplinäre Behandlung konnte ein Rückgang der Mortalität von 18,5 auf 8,2 % erreicht werden (Botelho-Nevers et al. 2009).

1.3. Mitralklappeninsuffizienzdiagnostik und Beurteilung des Schweregrades

Zur Diagnosestellung gehört eine Schweregradbestimmung der Mitralklappeninsuffizienz, welche in mehreren diagnostischen Schritten erfolgt.

1.3.1. Klinische Untersuchung

Die Basisdiagnostik der Mitralklappeninsuffizienz beinhaltet die Erfassung der klinischen Symptomatik, welche durch Herzinsuffizienzsymptome wie Belastungsdyspnoe, Abgeschlagenheit, Ödeme, Schwindel etc. gekennzeichnet sein kann. Zur Graduierung wird die Einteilung einer Herzinsuffizienz nach der NYHA-Klassifikation zu Grunde gelegt.

In der klinischen Untersuchung stehen die Auskultation des Herzens mit charakteristischen Herzgeräuschen sowie die Erfassung der Folgen der Herzinsuffizienz im Vordergrund (Pleuraerguss, Lungenstauung, Ödeme etc.) (Enriquez-Sarano et al. 2009).

1.3.2. Echokardiographie

Wenn sich aus den Untersuchungsergebnissen der Verdacht einer Mitralklappeninsuffizienz ergibt, besteht die Indikation zur zweidimensionalen transthorakalen und Farbdopplerechokardiographie als diagnostisches Standardverfahren (Lancellotti et al. 2013). Diese ist die zentrale diagnostische Maßnahme, um die Ursachen der Mitralklappeninsuffizienz (primär oder sekundär), Kalzifizierungen, degenerative Veränderungen im Bereich der Klappensegel, der Sehnenfäden oder der Papillarmuskeln etc., zu identifizieren. Die Echokardiographie liefert darüber hinaus wichtige Daten zum Ausmaß der Mitralklappeninsuffizienz. Beispielhaft ist in Abbildung 4 eine hochgradige Mitralklappeninsuffizienz in der Farbdoppler-Echokardiographie dargestellt.

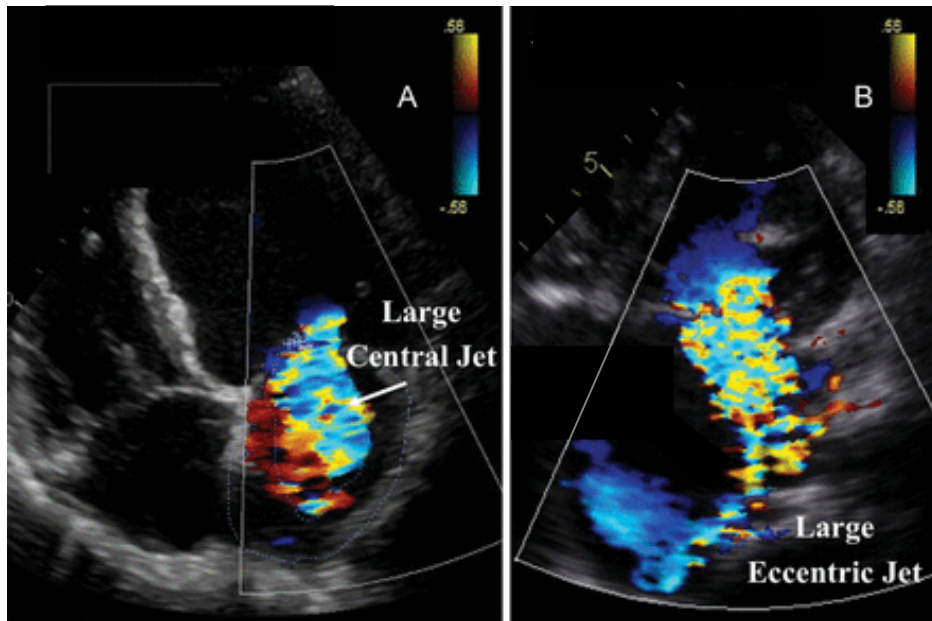


Abbildung 4: Mitralklappeninsuffizienzdiagnose mittels Farbdopplerechokardiographie: ein breiter, exzentrischer Jet spricht für eine schwergradige Mitralklappeninsuffizienz (Lancellotti et al. 2013)

Die Mitralklappeninsuffizienz wird basierend auf der Beurteilung mehrerer Parameter im Rahmen der echokardiographischen Untersuchung in drei Schweregrade eingeteilt. Die qualitativen Parameter wie die Mitralklappenmorphologie und die subjektive Beurteilung des Farbdoppler-Insuffizienz-Jets (Blutstrom im linken Vorhof während der Systole) stellen die wichtigsten Beurteilungskriterien dar. Regurgitationsvolumen und die effektive Regurgitationsöffnungsfläche (EROA) können mithilfe der Kontinuitätsmethode und der PISA-Methode („proximal isovelocity surface area“) berechnet werden. Weitere Parameter wie der systolische Rückfluss in den pulmonalen Venen („pulmonary vein flow“) und der CW-Profil der Klappe („continuous wave signal“) werden in Betracht gezogen (Lancellotti et al. 2013, Zeng et al. 2014).

Eine hochgradige primäre Mitralklappeninsuffizienz hat deutliche Auswirkungen auf den linken Ventrikel und den linken Vorhof. Die linksventrikuläre Funktion und der Durchmesser des linken Ventrikels sind deshalb weitere wichtige Informationen, die im Rahmen einer Echokardiographie gewonnen werden können (Lancellotti et al. 2013).

In Tabelle 2 ist eine Übersicht zur Beurteilung der Mitralklappeninsuffizienz anhand qualitativer, semiquantitativer und quantitativer Parameter dargestellt.

Die transösophageale Echokardiographie (TEE) ist eine wertvolle Ergänzung der Diagnostik, wenn die transthorakale Echokardiographie keine ausführliche Beurteilung ermöglicht (Lancellotti et al. 2013). Eine weitere ergänzende Methode ist die dreidimensionale Echokardiographie. Diese liefert plastische anatomische Bilder der Mitralklappe und

erleichtert, insbesondere bei komplexen Klappenlesionen die bessere quantitative Beurteilung der hämodynamischen Konsequenzen für das Herz (Lang et al. 2012, Garbi und Monaghan 2015)

Tabelle 2: Echokardiographische Beurteilung des Schweregrades der Mitralklappeninsuffizienz (Lancellotti et al. 2013)

	leicht	mittelschwer	schwer
Qualitativ			
Mitralklappenmorphologie	normal/ auffällig	normal/auffällig	sichtbare schwere Läsion
Farbdoppler Jet	schmaler, zentraler Jet	mittelgroß	sehr großer, exzentrischer Jet bis zum Vorhofsdach
Flusskonvergenz	keine bzw. minimal	mittel	Ausgedehnt
CW-Signal	schwach, parabelförmig	dicht, parabelförmig	triangulär, dicht, frühes Geschwindigkeitsmaximum
Semi-Quantitativ			
Vena contracta	< 3 mm	mittel	>= 7 mm
Pulmonalvenenfluss	systolische Welle dominant	flachere systolische Welle	Systolische Flussumkehr
Mitraliseinstrom	A-Welle dominant	variabel	E-Welle > 1,5 m/s
Mitral-aortale TVI-Ratio	< 1	mittel	> 1,4
Quantitativ			
Effektive Regurgitationsöffnung (mm²)	< 20	20-39	>= 40
Regurgitationsvolumen (ml)	< 30	30-59	>= 60

1.3.3. Herzkatheteruntersuchung

Die Herzkatheteruntersuchung dient ebenfalls der Beurteilung des Mitralklappeninsuffizienzgrades und der Messung der linksventrikulären Pumpfunktion. Ein linksventrikuläres Angiogramm erlaubt eine Einteilung der Mitralklappeninsuffizienz entsprechend dem Kontrastmittelreflux. Während bei leichtgradiger Insuffizienz ein diskreter Reflux im Bereich der Klappenebene zu sehen ist, kann bei schwergradiger Insuffizienz eine vollständige, frühe Kontrastierung des gesamten linken Vorhofs nachgewiesen werden (Hamm et al. 2008).

Die Koronarangiographie ermöglicht außerdem die Evaluierung einer eventuell vorliegenden begleitenden koronaren Herzerkrankung. Dies ist vor jeder geplanten chirurgischen Behandlung der Mitralklappe, insbesondere bei Patienten älter als 45 Jahre notwendig (Vahanian et al. 2012). Es wurde beschrieben, dass eine obstruktive Koronarläsion (>50%) bei Patienten mit Mitralklappeninsuffizienz, obwohl keine koronare Krankheit anamnestisch bekannt war in 19% der Fälle vorhanden sein kann. (Lin et al. 2001)

1.3.4. Laboruntersuchung

Die Erfassung der „brain natriuretic peptides“ (BNP) kann wichtige Informationen bzgl. des Schweregrads der Mitralklappeninsuffizienz liefern. Mehrere Untersuchungen konnten zeigen, dass der BNP-Plasmaspiegel mit dem Schweregrad der Mitralklappeninsuffizienz, der resultierenden Herzinsuffizienz und der Prognose der Patienten korreliert (Sutton et al. 2003). Der BNP-Wert kann bei der Entscheidung über den Erfolg der früheren Mitralklappenrekonstruktion hilfreich sein. Ein BNP-Wert über 105 pg/ml hat Patienten mit schwerer Mitralklappeninsuffizienz, die keine Luftnotangaben und somit anamnestisch asymptomatisch waren, identifiziert. Ein geringer BNP-Wert ist mit einer guten postoperativen Prognose korreliert (Bergler-Klein et al. 2014). Außerdem wurde berichtet, dass die operative/interventionelle Sanierung der Mitralklappe zu einer Reduktion der BNP-Spiegel führt (Klaar et al. 2011).

1.3.5. Weitere Untersuchungen

Das EKG liefert als ergänzende Maßnahme wichtige Informationen zum Herzrhythmus (z. B. die Präsenz von Vorhofflimmern) und zur Reizleitung im Sinne eines Schenkelblocks. Eine begleitende Ischämie kann auch auf diese Weise diagnostiziert werden.

Im Einzelfall können Belastungsuntersuchungen und die Stressechokardiographie Hinweise auf die Leistungsfähigkeit des Patienten geben und somit eine belastungsabhängige Verschlechterung der Mitralklappeninsuffizienz identifizieren (überproportionaler systolischer Anstieg des pulmonalarteriellen Drucks bei Belastung >60 mmHg) (Lancellotti et al. 2010).

In manchen Fällen können auch Computertomographie und Magnetresonanztomographie als ergänzende Informationsquellen zum Einsatz kommen.

1.4. Die Therapie der Mitralklappeninsuffizienz

1.4.1. Chirurgische Verfahren

Zwei chirurgische Verfahren werden zur Therapie einer chronischen Mitralklappeninsuffizienz eingesetzt: die Klappenrekonstruktion und der Klappenersatz. Die Methodenwahl ist unter anderem von der Ätiologie der Insuffizienz, der Anatomie der Klappe und der linksventrikulären Funktion abhängig (Nishimura et al. 2014)

1.4.1.1. Die Mitralklappenrekonstruktion

Die klappenerhaltende Operation stellt für viele Patienten mit einer symptomatischen, primären Mitralklappeninsuffizienz die Methode der Wahl dar. Sie ist mit einem geringeren perioperativen Risiko, besseren Überlebensraten und einer vorteilhaften linksventrikulären Pumpfunktion verbunden (Adams et al. 2010).

Im Rahmen der Mitralklappenrekonstruktion gelten Resektion von Segelanteilen, Plikatur, Transposition von Sehnenfäden bzw. Papillarmuskeln, Neochordae und Anuloplastieringe als etablierte Techniken. Die trianguläre bzw. quadranguläre Resektion des prolabierenden Anteils, hauptsächlich des P2-Segmentes ist ein häufiges Verfahren in Hinblick auf das posteriore Segel (Ziemer und Haverich 2010) Hierdurch wird ausgedünntes oder überschüssiges Gewebe beseitigt und die Kontinuität der Segel wiederhergestellt.

Zerstörte Sehnenfäden können entweder durch Transposition benachbarter Sehnenfäden oder durch den Einsatz künstlicher Sehnenfäden, sogenannter Neochordae, ersetzt werden. Eine neue Rekonstruktionstechnik mittels vorgefertigter Neochordae (Fadenmaterial aus Polytetrafluorethylen), die sogenannte Loop-Technik, wurde in den letzten Jahren intensiv erforscht und zeigte gute Ergebnisse in Hinblick auf das Erhalten der Klappenfunktion (David et al. 2013, Shibata 2014). Die segelerhaltende Rekonstruktion wird bevorzugt, um die anatomischen und physiologischen Eigenschaften der Klappe möglichst geringfügig zu

beeinflussen. Ergänzend muss eine passende Ringprothese den Anulus stabilisieren und modellieren.

1.4.1.2. Der Mitralklappenersatz

Unter einem Mitralklappenersatz versteht man das Ersetzen der natürlichen Mitralklappe durch eine Endoprothese. Grundsätzlich werden zwei Arten von Herzklappenprothesen unterschieden: mechanische Klappen und biologische Klappen (Transplantat von Mensch oder Tier). Ein wesentlicher Nachteil der mechanischen Klappen besteht in der gerinnungsaktivierenden künstlichen Oberfläche. Diese führt zu einem erhöhten Risiko von Thrombosen und Thrombembolien und macht eine lebenslange Antikoagulation notwendig (Hirner und Weise 2008). Biologische Herzklappen sind im Vergleich zum eigenen Gewebe einem schnelleren Abnutzungsprozess ausgesetzt und haben daher eine begrenzte Lebensdauer (Hoffmann et al. 2008). Üblicherweise sind bereits nach einigen Jahren sichtbare und auch funktionell bedeutsame Störungen vorhanden, die einen Austausch notwendig machen.

1.4.2. Interventionelle Behandlung

In manchen Fällen kann im interdisziplinären Konsens eine interventionelle Behandlung als Alternative eingesetzt werden. Dies ist bei schwergradigen Mitralklappeninsuffizienzen in Verbindung mit hohem Alter, thorakalen/kardialen Voroperationen oder großer Einschränkung der LV-Funktion der Fall. Derzeit werden zahlreiche Methoden der perkutanen katheterbasierten Behandlung der Mitralklappeninsuffizienz entwickelt und erprobt. Ausreichende Studiendaten und klinische Erfahrungen sind jedoch nur für das MitraClip-System vorhanden (Nickenig et al. 2013). Dieses hat bei Risikopatienten eine Verbesserung der Symptome bei relativ geringer Komplikationsrate ermöglicht (Rudolph et al. 2014).

Das Vorgehen bei vorliegender Mitralklappeninsuffizienz ist wesentlich von der echokardiographischen Diagnostik geführt. Eine Entscheidung über die Durchführung einer medikamentösen, interventionellen oder operativen Therapie, sowie die Wahl zwischen Klappenersatz und Klappenrekonstruktion beim operativen Verfahren stellt eine Herausforderung dar und begründet das Bemühen um eine quantitative Methode zur Diagnosestellung und Therapieentscheidung.

Hierzu könnten die Matrix-Metalloproteasen beitragen. Ihre Rolle in der Mitralklappeninsuffizienz ist noch nicht abschließend erforscht. Ein besseres Verständnis

dieser Rolle könnte neue Perspektiven in der Diagnostik der Mitralklappeninsuffizienz eröffnen und somit eine Hilfestellung bei der Therapieentscheidung leisten.

1.5. Die Matrix-Metalloproteasen und ihre Inhibitoren

Die Beschreibung der ersten humanen Matrix-Metalloprotease (MMP-1) wurde um 1966 vorgenommen. Über 10 Jahre später wurde das zweite Mitglied der MMP-Familie, die Gelatinase-A (MMP-2) entdeckt. Seitdem waren die Matrixine und ihre Inhibitoren im Mittelpunkt der Tumorforschung, die sie als wichtige Parameter für die Physiopathologie, die Prognose aber auch die Therapie sieht (Kessenbrock et al. 2010, Gialeli et al. 2011).

Die Matrix-Metalloproteasen (auch als Matrixine oder MMPs bekannt) sind eine Gruppe kalziumabhängiger, zinkhaltiger Endopeptidasen, die strukturell und funktionell verwandt sind. Sie tragen wesentlich zur Degradation von extrazellulärer Matrix bei und spielen daher eine wichtige Rolle beim Gewebeumbaus in zahlreichen biologischen Prozessen wie der Morphogenese, Wundheilung, Angiogenese oder bei pathologischen Prozessen wie das Tumorwachstum (Egeblad und Werb 2002).

1.5.1. Struktur und Klassifikation

MMPs bestehen normalerweise aus drei Domänen, dem aminoterminalen Propeptid, der katalytischen Domäne, die mit einem Metallion (meist Zink) verbunden ist, und der Hemopexin-Domäne am Carboxylende. Die 24 bisher bekannten MMPs werden nach der Organisation ihrer Domänen sowie nach ihrer Substratspezifität und Sequenzgleichheit in sechs Gruppen eingeteilt (Visse und Nagase 2003): MMP-1, MMP-8, MMP-13 und MMP-18 gehören der Gruppe der Kollagenasen. Die wichtigste Funktion dieser Gruppe ist die Spaltung der Kollagene I, II und III. Zusätzlich können die Kollagenasen zahlreiche weitere Moleküle verdauen. Die MMP-2 (Gelatinase A) und MMP-9 (Gelatinase B) werden in der Gruppe der Gelatinasen zusammengefasst. Diese beiden Enzyme verdauen Gelatine, die denaturierte Form von Kollagen. MMP-3, MMP-10 und MMP-11 zählen zur Gruppe der Stromelysinen. MMP-7 und MMP-26 gehören zu der Matrilysinengruppe. Sechs weitere MMPs (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25) werden der Gruppe der Membranständigen MMPs zugeteilt. Sieben MMPs (MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-27, MMP-28) werden keiner der oben genannten Kategorien zugeordnet (Visse und Nagase 2003).

Die MMPs gelten als extrazelluläre Proteine. Mehrere Studien haben allerdings gezeigt, dass MMP-1, MMP-2 und MMP-11 auch intrazellulär nachweisbar sind und mit anderen intrazellulären Proteinen interagieren (Limb et al. 2005, Kwan et al. 2004).

1.5.2. Regulation der MMPs

Die MMPs sind pro-Enzyme und werden als inaktive Zymogene synthetisiert. Ihre Aktivierung findet meistens extrazellulär statt und erfolgt sowohl auf proteolytischer als auch auf nicht-proteolytischer Weise. Dabei wird die Bindung zwischen dem Cysteinrest und dem Zinkion der katalytischen Domäne zerstört. Dieser Vorgang wird als „cystein switch“ bezeichnet (Visse und Nagase 2003). Verschiedene Gewebe- und Plasmaendopeptidasen wirken aktivierend auf MMPs. Ebenfalls bewirkt die Peptidase Plasmin eine vollständige Aktivierung von Pro-MMP-9, Pro-MMP-3 und Pro-MMP-10 (Lijnen 2001). Chemische Substrate wie z.B. NO spielen auch eine Rolle bei der Aktivierung (Gu et al. 2002). Darüber hinaus ist die MMP-2 in der Lage, die Pro-MMP-9 zu aktivieren (Fridman et al. 1995). Hierbei stellt die Tatsache, dass ein sogenannter „Tissue Inhibitor of Matrixmetalloproteinases“ (TIMP) zur Aktivierung notwendig ist, einen besonderen Aspekt dar. Der TIMP-2 wird zum Beispiel für die Aktivierung der Pro-MMP-2 gebraucht (Wang et al. 2000).

Durch spezifische und unspezifische Inhibitoren kann die Aktivität von MMPs gehemmt werden. Die Gruppe der Gewebeinhibitoren von Metalloproteasen stellt die spezifischen Inhibitoren dar. Bislang konnten vier verschiedene TIMPs bei Wirbeltieren ermittelt werden: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 und TIMP-4 (Visse und Nagase 2003). Es handelt sich um relativ kleine Proteine, die sich aus 2 Domänen zusammensetzen. Diese Peptidase hemmen fast alle MMPs. Neben den TIMPs als spezifische Inhibitoren der MMPs gibt es auch unspezifische Inhibitoren, zu denen das Akute-Phase-Protein α 2-Makroglobulin gehört. Es wurde z. B. gezeigt, dass MMP1 stärker mit α 2-Makroglobulin als mit TIMP1 interagiert (Cawston und Mercer 1986).

1.5.3. Funktion der MMPs und TIMPs

Indem sie die extrazelluläre Matrix abbauen, spielen die aktivierten MMPs eine wichtige Rolle beim Umbauprozess, der während der Embryogenese, Morphogenese, Wundheilung, Angiogenese und auch bei der Tumor-Invasion und anderen pathologischen Abläufen stattfindet (Egeblad und Werb 2002). Obwohl dieser Prozess für lange Zeit als Hauptfunktion der MMPs galt, haben neuere Studien gezeigt, dass MMPs über ein breiteres

Spektrum an Funktionen verfügen. Beispielsweise wurde ihre Rolle im proteolytischen Prozess von Cytokinen, Wachstumsfaktor und Wachstumsfaktor-Rezeptoren und in der molekularen Zelladhäsion bereits nachgewiesen (McCawley und Matrisian 2001, Rodriguez et al. 2010).

Zu den Funktionen der TIMPs gehört die Hemmung aller aktiven MMPs. Die TIMPs sind die endogenen spezifischen Inhibitoren der MMPs und spielen deshalb auch eine Rolle im Umbau der extrazellulären Matrix. Diese Inhibition ist dennoch nicht gleich wirksam für alle TIMPs. TIMP-1 hemmt beispielsweise bevorzugt MMP-1, MMP-3, MMP-7 und MMP-9 während TIMP-2 ein effektiver Hemmer der MMP-2 ist. TIMP-3 wird als Inhibitor für MMP-2 und MMP-9 angesehen, und TIMP-4 spielt eine Rolle in der Einschränkung der katalytischen Aktivität der MT1-MMP und MMP-2 (Bourboulia und Stetler-Stevenson, 2010)

Weitere bekannte Funktionen sind z. B. die Aktivierung von Pro-MMPs, die Förderung des Zellwachstums, die Matrixbindung, die Hemmung der Angiogenese und die Einleitung der Apoptose (Lambert et al. 2004).

1.5.4. MMPs und kardiovaskuläre Krankheiten

Wie bei den Tumorerkrankungen besteht in letzter Zeit ein zunehmendes Interesse an der Rolle der MMPs und ihrer Inhibitoren in der Pathogenese verschiedener kardiovaskulärer Erkrankungen. Die Matrix-Metalloproteasen und ihre Inhibitoren wurden in zahlreichen Studien mit kardiovaskulären Krankheiten in Verbindung gebracht und ihre Assoziation mit deren pathologischen Prozessen wurde mehrfach gezeigt (Barbour et al. 2007, Kelly et al. 2007)

Die MMPs könnten beispielsweise eine Rolle in der Entwicklung eines thorakalen bzw. abdominalen Aortenaneurysma spielen (Barbour et al. 2007). Ebenfalls wurde ein erhöhter MMP Plasmaspiegel bei arterieller Hypertonie gefunden (Onal et al. 2009). Auch in arteriosklerotischen Plaques wurde eine erhöhte MMP-Expression gemessen. Die MMP-Aktivierung könnte daher die Atherogenese, die Thrombozytenaggregation und die Plaque-Destabilisierung fördern (Beaudeau et al. 2004, Kadoglou et al. 2005).

Eine wichtige Rolle spielen die MMPs und TIMPs zusätzlich beim akuten Koronarsyndrom. Ein erhöhter Urinspiegel von MMP-9 und TIMP-1 wurde bei Patienten mit koronararterieller Krankheit bestimmt (Fitzsimmons et al. 2007). Nach einem akuten Myokardinfarkt wurden auch erhöhte MMP-2 und MMP-9-Spiegel festgestellt (Kelly et al. 2007). Derzeit werden MMPs und TIMPs als wichtige Prognose-Indikatoren nach einem Myokardinfarkt in Betracht

gezogen (Kelly et al. 2008). Lindsey und Zamilpa haben die zeitliche und örtliche Verteilung der MMPs und ihrer Inhibitoren im Herzen nach einem Myokardinfarkt untersucht und konnten die Präsenz von MMP-1, -2, -3, -7, -9 und TIMP-1 in den Myozyten nachweisen. In den Fibroblasten waren MMP-1, -2, -3, -9, -13, -14 und TIMP-1 vorhanden, während in den Myofibroblasten MMP-2 und -14, in den Neutrophilen MMP-8 und -9, in den Makrophagen MMP-1, -3, -7, -8, -19 und -12 und in den Endothelialzellen MMP-2 und -9 nachweisbar waren (Lindsey und Zamilpa 2012).

1.5.5. MMPs und die Mitralklappe

MMPs sind im valvulären Gewebe vorhanden. Eine Lokalisation der Matrixine hatte gezeigt, dass MMP-1, TIMP-1 und TIMP-2 in allen Herzklappen nachweisbar sind; MMP-2 hingegen nur in der Aorten- und Pulmonalklappe. MMP-3 und MMP-9 wurden interessanterweise in den Herzklappen nicht gefunden (Dreger et al. 2002).

Der Zusammenhang zwischen MMPs und Mitralklappenerkrankungen wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Beispielsweise konnte eine Korrelation zwischen MMP-Gehalt und Fibrose im linken und im rechten Vorhof bestätigt werden. Dies könnte auf eine MMP-Beteiligung im kardialen Remodeling hinweisen (Anné et al. 2005). Bei myxomatöser Klappe wurde ein erhöhter MMP-2-Gehalt festgestellt. Erhöhter oxydativer Stress bei myxomatöser Krankheit führte zur erhöhten β -TGF-induzierten Fibrose und Remodeling. Es gab dagegen keinen Unterschied im MMP-9-Gehalt zwischen myxomatöser und gesunder Klappe (Hagler et al. 2013).

Beim Mitralklappenprolaps wurde eine erhöhte sympathische Aktivität festgestellt. Die Zellen mit erhöhtem Norepinephrin-Gehalt wiesen einen erhöhten totalen MMP2-, MMP9- und einen niedrigeren TIMP2-Spiegel auf. Das sympathische Nervensystem spielt durch seinen Einfluss auf die MMP-Synthese eine Rolle in der Mitralklappendegeneration (Hu et al. 2014). Eine Korrelation zwischen Intensität der TIMP2-Färbung in der Mitralklappe und Häufigkeit des mitralen Sehnenfadenabrisses sowie eine gradabhängige Assoziation zwischen TIMP2-Nachweis und Auftreten eines Chordae-Abrisses wurden gezeigt. Patienten mit hoher TIMP2-Intensität weisen ein erhöhtes Risiko auf, einen Sehnenfadenabriss zu erleiden (Lin et al. 2009).

Eine positive Korrelation wurde auch zwischen MMP-1-Färbungsintensität in der Mitralklappe und Sehnenfadenabriss gezeigt (Lin et al. 2013). Eine wichtige experimentelle Studie hat sich mit der physiopathologischen Konsequenz von MMPs befasst (Mahimkar et al. 2009):

Der transgene Ausdruck von MMP-2 führt bei Mäusen zu ähnlichen pathologischen Befunden in Sehnenfäden wie beim humanen Mitralklappenprolaps (keine gute Differenzierung zwischen Spongiosa und Fibrosa, Akkumulation großer Mengen abnormer Proteoglykane und Degeneration von Kollagen und elastischen Fasern). Die MMPs könnten daher am Degenerationsprozess der Mitralklappe beteiligt sein. Auch in degenerierten Klappenbioprothesen wurde bei konstantem MMP-2-Spiegel ein erhöhter MMP9-Spiegel bestimmt (Simionescu et al. 1996).

Die MMPs und ihre Inhibitoren üben weitere Einflüsse aus. Beispielsweise führt ein TIMP2-Mangel zur Verschlimmerung der kardialen Dysfunktion nach biomechanischem Stress (Kandalam et al. 2011). Es wurde gezeigt, dass ein Mangel an TIMP-2 mit einem Anstieg von Todes- und Herzversagensraten nach Mitralklappenoperationen verbunden ist. TIMP-2 kann als unabhängiger Prognosefaktor bei Mitralklappenkrankheit betrachtet werden (Lin et al. 2014).

2. Ziel der Arbeit

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit lag in der Analyse der Expression von Matrix-Metalloproteinasen bei Mitralklappeninsuffizienz. Dafür wurden zwei Matrix-Metalloproteinasen (MMP1 und MMP-9) und zwei Inhibitoren (TIMP-1 und TIMP-2) im valvulären Gewebe von Patienten mit Mitralklappeninsuffizienz immunhistochemisch untersucht und mit den klinisch-pathologischen Befunden verglichen.

Ziel der Arbeit war ein Beitrag zum besseren Verständnis der Rolle von Matrix-Metalloproteinasen in der Mitralklappeninsuffizienz. Es galt folgende Fragestellungen zu beantworten:

- Spielen Matrix-Metalloproteinasen eine Rolle in der Entstehung der Mitralklappeninsuffizienz?
- Besteht eine Korrelation zwischen der MMP-Expression in der Mitralklappe und dem klinisch-pathologischen Mitralklappeninsuffizienzgrad?
- Gibt es einen Unterschied in der Expression von MMPs in Abhängigkeit von der Ätiologie der chronischen Mitralklappeninsuffizienz?
- Kann die MMP-Expression als Hilfestellung in der Diagnostik eingesetzt werden?

3. Patienten, Material und Methoden

3.1. Material

3.1.1. Untersuchungsmaterial

Bei dem in der vorliegenden Arbeit retrospektiv untersuchten Material handelt es sich um Mitralklappengewebe aus chirurgischen Resektaten. Dieses wurde nach Entnahme in zehnprozentiger Formalinlösung (entsprechend 3,76% Formaldehyd) fixiert, daraufhin nach Standard in Paraffin eingebettet und anschließend archiviert. Die verwendeten Proben entstammen dem Archiv des Instituts für Pathologie der Philipps-Universität Marburg.

3.1.2. Geräte, Chemikalien und Ansätze

3.1.2.1. Geräte

- Brutschrank/Inkubationsschränke (Ehret, Emmendingen)
- Kühl- und Gefriergeräte (Liebherr, Biberach an der Riss; Bosch, Gerlingen-Schillerhöhe)
- Mikrotom SM 2000 R (Leica, Bensheim)
- Superfrost plus Objektträger (Thermo)
- Objektträger (Otto)
- Tissue Strainer COT 20 (Meditate)
- Autostainer plus Gerät (DAko)
- Dampfkocher Multigourmet
- Lichtmikroskop (Olympus)

3.1.2.2. Chemikalien und Ansätze

- Xylol (Merck, Darmstadt)
- Ethanol (Merck, Darmstadt)
- Eosin (Roth, Karlsruhe)
- Hämalan (Roth, Karlsruhe)
- Entellan (Merck, Darmstadt)

- Antigen Demaskierung TRS-EDTA
 - Dako Target Retrieval Solution pH 9
 - Fa. Dako
 - Bestellnummern S2362, S2367
- Antigen-Demaskierung TRS-Citrat
 - Dako Target Retrieval Solution Citrat pH6
 - Fa. Dako
 - Bestellnummer S2369
- Peroxydase Blocking solution (S2023, Fa. Dako)
- Wash Buffer (S3006, Fa. Dako)
- Antibody Diluent (S2022, Fa. Dako)
- Dako REAL Envision HRP Rabbit/Mouse (K5007, Fa. Dako.)
- Dako Real DAB-Chromogen (K 5007, Fa. Dako)
- Dako Real Substrate Buffer (K5087, Fa. Dako)
- Dako Real Hämatoxylin (S2020, Fa. Dako.)

3.1.3. Antikörper

Die verwendeten Antikörper sind kommerzielle monoklonale Antikörper, entstammen der Maus-Spezies und sind gegen humane Proteine gerichtet.

MMP-1: Mouse Anti-Human Matrix Metalloproteinase-1 Monoclonal Antibody

Verdünnung 1:10000

Bestellnummer MAB3307

Hersteller Fa. Millipore

MMP-9: Novocastra Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Matrix Metalloproteinase 9

Verdünnung 1:20

Bestellnummer NCL-MMP9-439

Hersteller Fa. Leica biosystems

TIMP-1: Monoclonal Mouse Anti-Human Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 1 clone VT7

Verdünnung 1:50

Bestellnummer M7293

Hersteller Fa. Dako

TIMP-2: Novocastra Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase 2

Verdünnung 1:50

Bestellnummer NCI-TIMP2-487

Hersteller Fa. Leica biosystems

3.2. Methoden

3.2.1. Gewebeaufbereitung zur HE- und immunhistochemischen Färbung

Zur leichteren Bearbeitung wurde das in Paraffin eingebettete Material für ca. 20 Min. bei -20°C gelagert. Anschließend wurden mit einem Schlitten-Mikrotom (SM 2000 R, Leica) ca. 2 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Super-frost-plus-Glasobjektträger der Firma Thermo scientific (Für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung auf normale Objektträger) aufgezogen und im Brutschrank für mindestens 60 Minuten bei 60°C entparaffiniert.

3.2.2. Die Hämatoxylin-Eosin Färbung

Eine Übersichtsfärbung mit Hämatoxylin-Eosin wurde bei allen Gewebeproben durchgeführt. Die vorbereiteten Gewebeschnitte wurden im kontinuierlichen Linearfärbeautomat „Tissue Stainer COT 20“ nach einem festgeschriebenen Protokoll gefärbt. Dabei wurden folgende Lösungen eingesetzt (in zeitlicher Reihenfolge): Xylol, Alkohol (100%, 96%, 70%), Wasser, Hämalun, Wasser, Eosin, Alkohol (96%, 100%) und Xylol.

Die gefärbten Gewebeschnitte wurden anschließend von einem Pathologen in Hinblick auf Probenqualität und Ätiologie beurteilt.

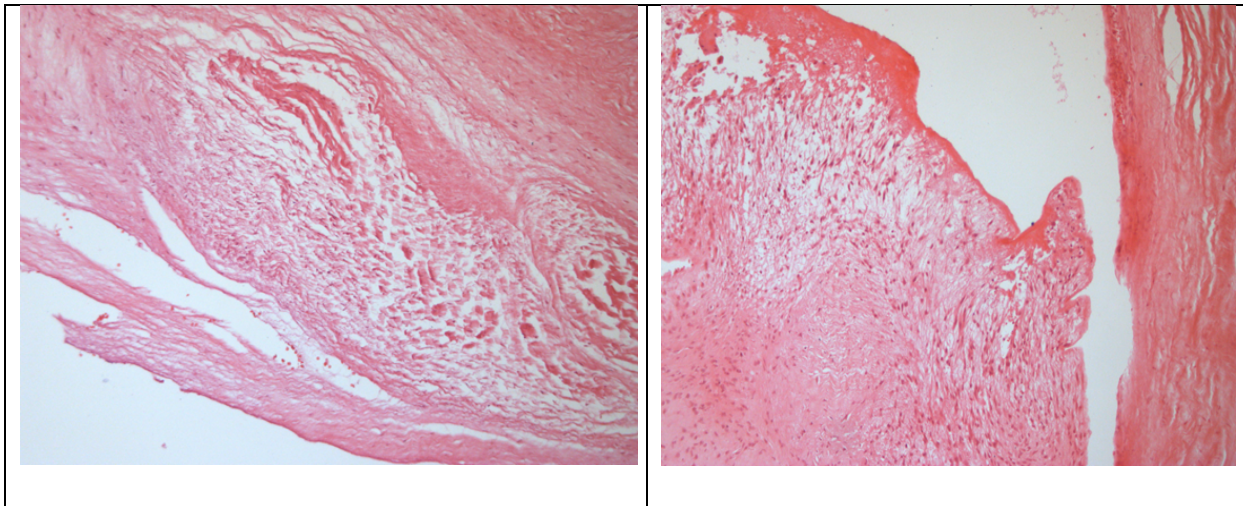


Abbildung 5: Übersichtsfärbung mit Hämatoxylin-Eosin (rechts: myxoide Mitralklappe, links: Endokarditis)

3.2.3. Immunhistochemie

Im Folgenden werden die Schritte des Verfahrens zur immunhistochemischen Färbung erläutert.

1. Entparaffinierung: Zur Entparaffinierung wurden die Schnitte für 3x10 Min. in Xylol gewaschen und anschließend durch eine absteigende Alkoholreihe (2x5 Min. 100% Ethanol, 2x5 Min. 96% Ethanol, 2x5 Min. 70% Ethanol) gezogen. Schließlich wurden die Schnitte mit destilliertem Wasser gespült.

2. Antigen-Demaskierung: Die Schnitte wurden in Demaskierungslösungen eingetaucht und anschließend für 45 Min. in einen Dampfkocher gestellt. Schließlich wurden sie mit destilliertem Wasser gespült. Es wurden folgende Demaskierungslösungen verwendet:

MMP-1: Antigen Demaskierung TRS-EDTA

MMP-9: Antigen demaskierung TRS-EDTA

TIMP-1: Antigen-Demaskierung TRS-Citrat

TIMP-2: Antigen-Demaskierung TRS-EDTA

Die darauffolgenden Schritte wurden im Gerät „Autostainer plus“ durchgeführt.

3. Endogene Enzymblockierung: Mit Hilfe einer Peroxydase-hemmenden Lösung wurden die endogenen Enzyme blockiert.

4. Spülung mit Wash Buffer

5. Interaktion mit dem jeweiligen primären Antikörper für 45 Min. Die Antikörper wurden vorher mit „Antibody Diluent“ verdünnt.

6. Spülung mit Wash Buffer zur Entfernung der nicht gebundenen Sekundärantikörper.

7. Polymerkonjugat Dako Real Envision für 20 min: Die Polymerkonjugat-Methode basiert auf dem Einsatz eines sowohl Enzym- als auch antikörpermarkierten Polymerkonjugats, dessen „Rückgrat“ aus einem inerten Dextranmolekül besteht. Neben durchschnittlich 70 Enzymmolekülen können daran 10 Antikörpermoleküle gebunden werden. Die Konjugation von Anti-Maus- und Anti-Kaninchen-Immunglobuline-Sekundärantikörpern macht das System jeweils für mono- und polyklonale Primärantikörper einsetzbar.

8. Spülung mit Wash Buffer

9. Chromogen für 12 min: Diaminobenzidin-Chromogen und Substrate Buffer. Es bildet sich eine bräunliche, in Alkohol unlösliche Farbe.

10. Spülung mit Wash Buffer

11. Spülung mit destilliertem Wasser

12. Gegenfärbung mit Hämatoxylin-Lösung, um die Zellen sichtbar zu machen (mit destilliertem Wasser 1:5 verdünnt, für 5 Min.)

13. Entnahme der Schnitte aus dem Gerät

14. Dehydratation: Die Schnitte wurden anschließend durch eine Alkoholreihe aufsteigender Konzentration entwässert, um eine vollständige Dehydratation zu gewährleisten (2x5 Min. 70% Ethanol, 2x5 Min. 96% Ethanol, 2x5 Min. 100% Ethanol); anschließend 3x10 Min. Xylol.

15. Eindecken: Die Objektträger wurden mit einigen Tropfen Entellan bestrichen und mit einem Deckglas versiegelt.

3.2.4. Auswertungsmethode der immunhistochemischen Präparate

Zur Kontrolle der durchgeführten immunhistochemischen Färbungen wurden Positivkontrollen angefertigt und beurteilt. Als Positivkontrolle diente Gewebe, das laut Antikörper-Datenblatt gesichert die Zielproteine exprimiert. Abbildung 6 stellt Aufnahmen der Positivkontrollen dar.

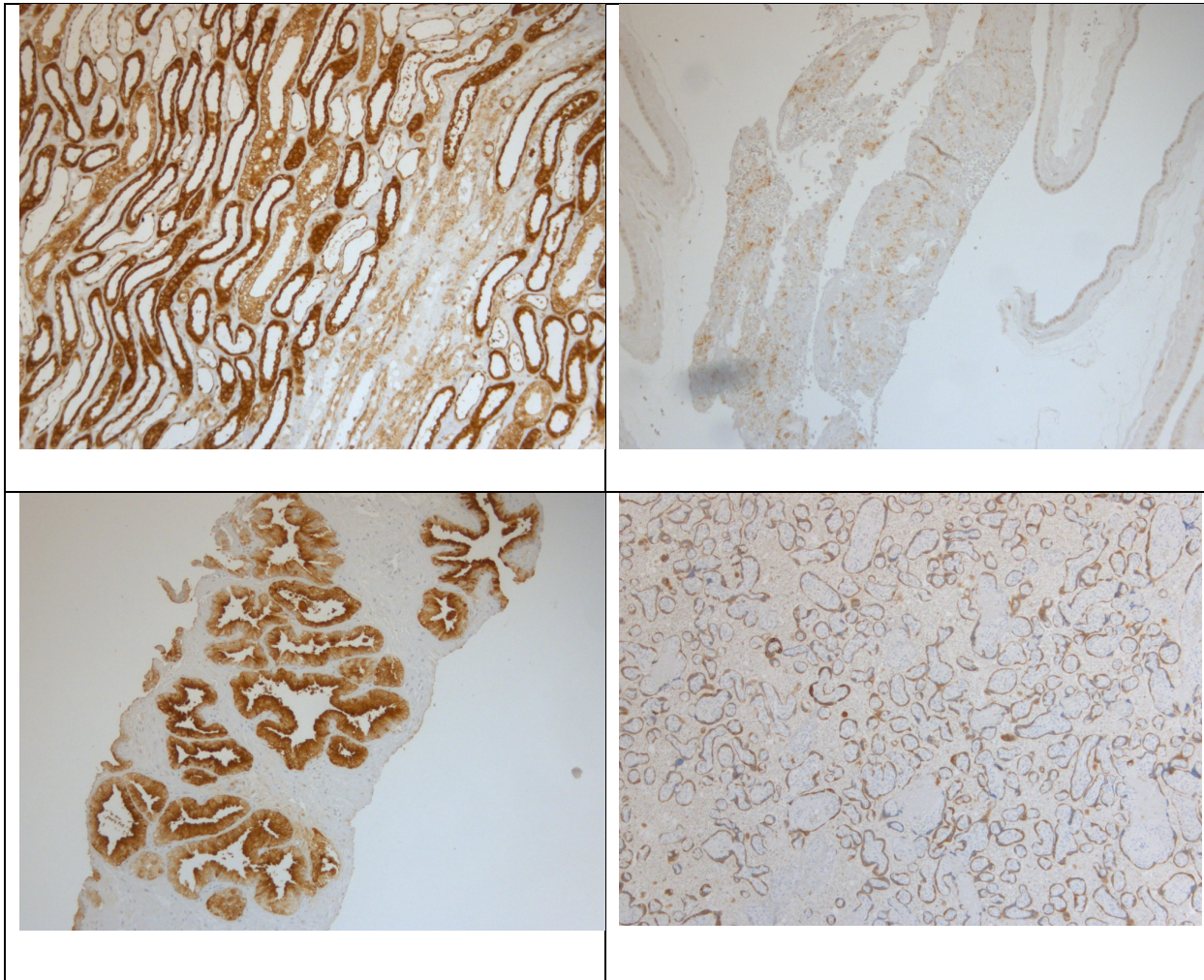


Abbildung 6: Positive Kontrollen (oben rechts: MMP-1, Niere; oben links: MMP-9, Plazenta; unten rechts: TIMP-1, Prostata; unten links: TIMP-2, Plazenta)

Die immunhistochemisch gefärbten Präparate wurden mit einem Lichtmikroskop der Firma Olympus in 4-, 10- und 40-facher Vergrößerung untersucht. Die Einteilung der immunhistochemischen Färbeargebnisse wurde anhand der folgenden semi-quantitativen Skala ermittelt (prozentualer Anteil der gefärbten Zellen):

0 = negativ (keinerlei Färbung erkennbar)

1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen

2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen

3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen

Um eine möglichst objektive Auswertung zu erzielen, wurden die Prozentzahlen sowohl von der Autorin als auch von einem Pathologen verblindet ermittelt und anschließend gemeinsam reevaluiert.

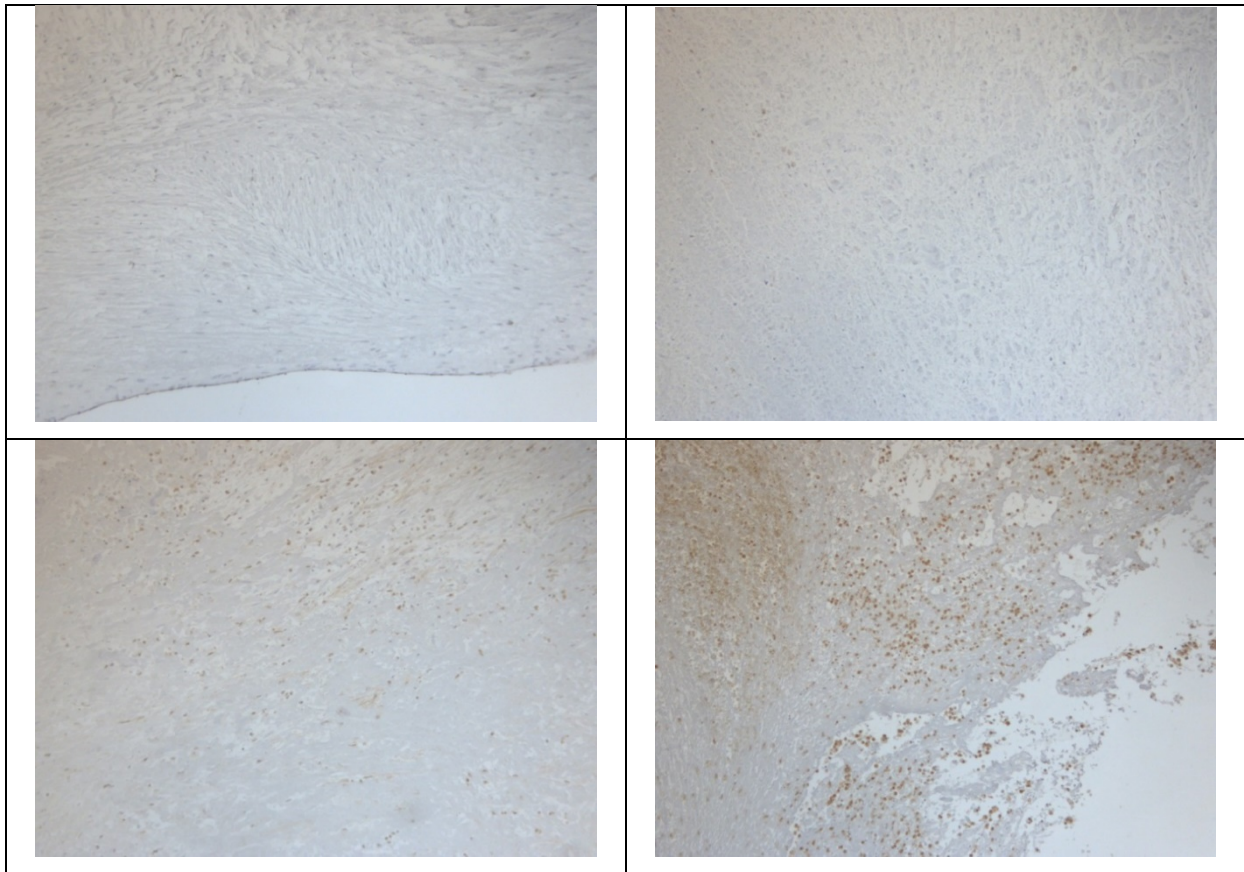


Abbildung 7: Ein Beispiel für die Bewertung anhand der gefärbten Zellen: MMP-9 (oben links: Grad 0, oben rechts: Grad 1; unten links: Grad 2; unten rechts: Grad 3)

3.2.5 Bildgebung

Die in der Dissertation vorhandenen Bilder wurden mit einem Fotomikroskop der Firma Leica mit Hilfe der „IM50 Basissoftware Digital“ aufgenommen und bearbeitet.

3.2.6 Statistik

Zur statistischen Analyse wurde das Programm „IBM SPSS Statistics 24“ (Statistical Package for the Social Sciences) genutzt.

Als signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ für alle statistischen Tests angesehen. Bei kontinuierlichen Variablen wie zum Beispiel Patientenalter wurden deskriptive Statistiken wie Mittelwert, Maximum, Minimum und Median verwendet. Bei kategorialen Variablen wie Geschlecht, Komorbiditäten (wie z.B. Vorhofflimmern, KHK und arterielle Hypertonie) wurden die Häufigkeiten ausgewertet.

Um die Abhängigkeit zwischen der Expression der Matrixmetalloproteinase und ihrer Inhibitoren und dem Mitralklappeninsuffizienzgrad bzw. der Ätiologie zu bewerten, wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet. Da im vorliegenden Fall die unabhängige Variable (MMP-Score) definitionsgemäß eine ordinalskalierte kategoriale Variable ist, wurde zur Auswertung des Tests der Zusammenhang linear-mit-linear herangezogen (Chi Quadrat nach Mantel-Haenszel).

3.3. Ethikvotum

Diese Studie wurde der Ethikkommission der Philipps-Universität Marburg vorgelegt und unter dem Aktenzeichen 70/16 genehmigt. Das positive Ethikkommissionsvotum wurde am 05.09.2016 erteilt.

3.4. Patienten

In dieser Arbeit wurden retrospektiv die Akten von 80 Patienten betrachtet, die an einer Mitralklappeninsuffizienz erkrankt waren. Die Operationen fanden zwischen 2007 und 2015 statt. Eine Gewebeprobe wurde hierbei aus der erkrankten Mitralklappe entnommen.

3.4.1. Geschlecht und Alter

Von den insgesamt 80 betrachteten Patienten waren 33 Frauen (41,3%) und 47 Männer (58,7%). Das Erkrankungsalter lag zwischen 32 und 89 Jahren bei einem medianen Alter von 67 Jahren.

3.4.2. Komorbiditäten

71 Patienten hatten zusätzlich zur Mitralklappeninsuffizienz mindestens eine weitere relevante Erkrankung. Die häufigsten Nebendiagnosen waren arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, Koronare Herzerkrankung, Herzrhythmusstörungen und Niereninsuffizienz. Weitere relevante Nebenerkrankungen waren u.a. Trikuspidalinsuffizienz, Aortenvitium, chronisch obstruktive Lungenerkrankung, periphere arterielle Verschlusskrankheit und Z.n. apoplektischem Insult.

Von insgesamt 80 Patienten hatten 9 keine relevanten Komorbiditäten. Die Anzahl der Patienten, die jeweils eine, zwei oder drei und mehr Nebenerkrankungen beläuft sich auf 19, 21 und 31 (Siehe Abb. 8)

Die Häufigkeiten der Hauptnebenerkrankungen werden in Tabelle 3 präsentiert.

In der Mehrzahl der Fälle wurde eine Herzkatheteruntersuchung vor dem geplanten Eingriff durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen wurden folgende Befunde erhoben: Bei 49 Patienten wurde keine relevante Stenose der Koronararterien diagnostiziert. Bei 20 Patienten war dagegen eine KHK vorhanden. Diese teilten sich wie folgt auf: 6 Patienten hatten eine ein-Gefäß-KHK, 5 Patienten eine 2-Gefäß-KHK und 8 eine 3-Gefäß-KHK. Ein Patient hatte in seiner Vorgeschichte eine bekannte KHK mit Z.n. koronarer Bypassoperation.

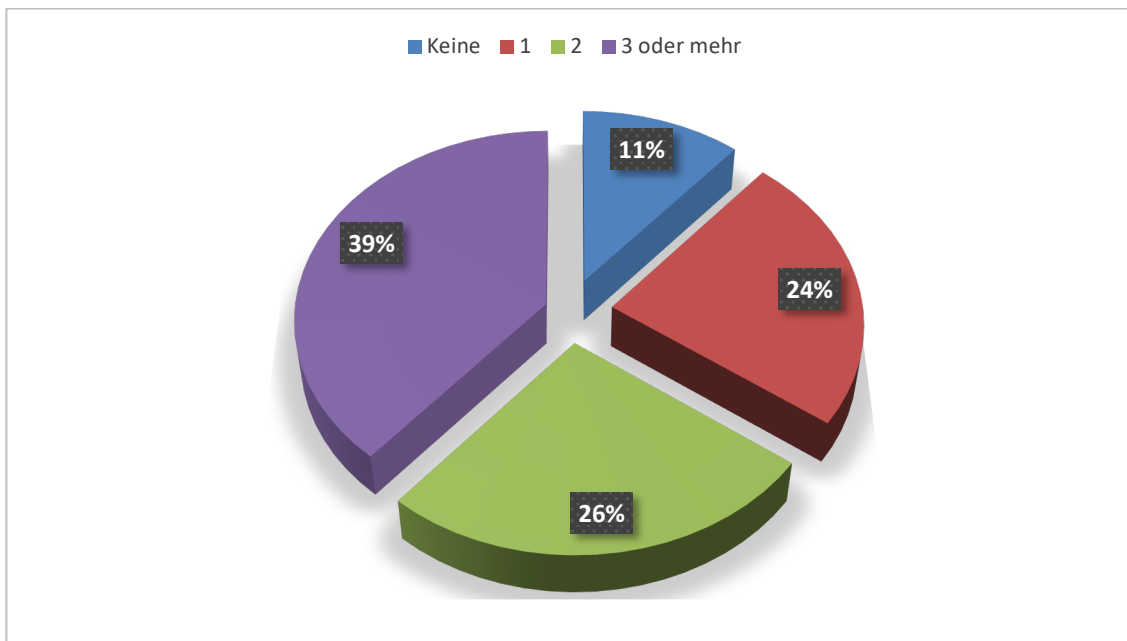


Abbildung 8: Verteilung der Patienten anhand der Anzahl der Nebendiagnosen (arterielle Hypertonie, kHK, Vorhofflimmern, chronische Niereninsuffizienz, Diabetes Typ II)

Tabelle 3: Häufigkeit der 3 wichtigsten Nebendiagnosen

Komorbiditäten		Häufigkeit	Prozentzahl
Arterielle Hypertonie	Ja	41	51,2 %
	Nein	39	48,8%
Vorhofflimmern	Ja	39	48,8%
	Nein	41	51,2%
KHK	Ja	20	25%
	Nein	49	61,3%
	Ohne Angabe	11	13,7%

Zusätzlich hatten 14 Patienten eine bekannte chronische Niereninsuffizienz und 13 waren an Typ-2 Diabetes erkrankt.

3.4.3. Symptome

Die meisten Patienten waren symptomatisch. Das Hauptsymptom war eine Belastungsdyspnoe (bei 29 Patienten). Bei 12 weiteren Patienten waren unklares Fieber und Abgeschlagenheit aufgetreten. 5 hatten bei der Diagnosestellung einen septischen Schock.

3.4.4. Echokardiographie

Die Diagnose der Mitralklappeninsuffizienz wurde anhand einer Echokardiographie bestätigt. Der Schweregrad wurde mittels mehrerer echokardiographischer Parameter festgelegt. Bei den untersuchten Patienten hatten 8 den MI-Grad 1, 27 den MI-Grad 2 und 45 den MI-Grad 3.

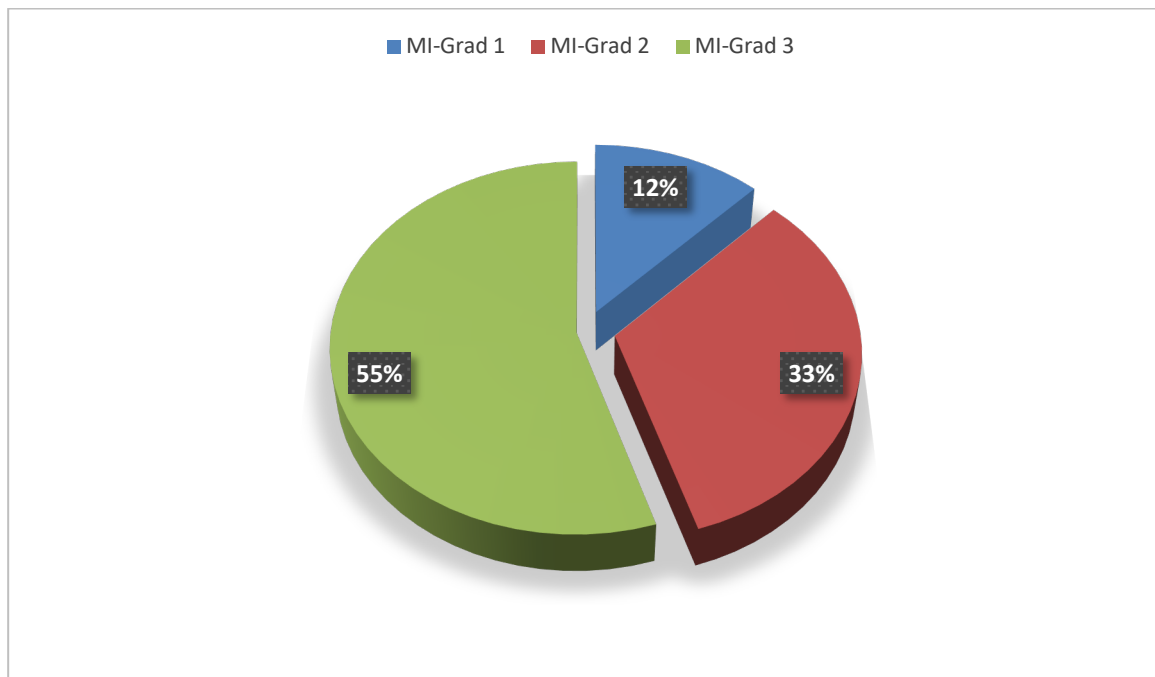


Abbildung 9: Verteilung der Patienten anhand des Mitralklappeninsuffizienzgrades

Nach der gemessenen Ejektionsfraktion (EF) wurden die Patienten in 3 Gruppen unterteilt. 48 Patienten hatten eine normale EF (> 55%). 9 hatten eine leicht eingeschränkte EF (46%-55%) und 8 eine mittelgradig eingeschränkte EF (36%-45%). Bei 15 Patienten waren keine Angaben zur EF vorhanden.

3.4.5. Das operative Verfahren

Der operative Zugang erfolgte bei den meisten Patienten durch eine mediane Sternotomie. Bei einem Patienten wurde eine rechtslaterale Minithorakotomie durchgeführt. In 33 Fällen wurde die Mitralklappe rekonstruiert, bei 47 Patienten wurde sie ersetzt. Von den 47 Klappenprothesen waren 25 biologisch und 22 mechanisch.

3.4.6. Pathologischer Befund

Die Ätiologie wurde im pathologischen Bericht dokumentiert. Diese kann in zwei Gruppen unterteilt werden: die Mitralklappenendokarditis und die degenerative Mitralklappeninsuffizienz. In der Gruppe der degenerativen Ätiologien kann zwischen folgenden Untergruppen unterschieden werden: myxoid, sklerosiert und gemischt (myxoid und sklerosiert). Abbildung 10 stellt die Aufteilung der betrachteten Patienten nach Ätiologie dar.

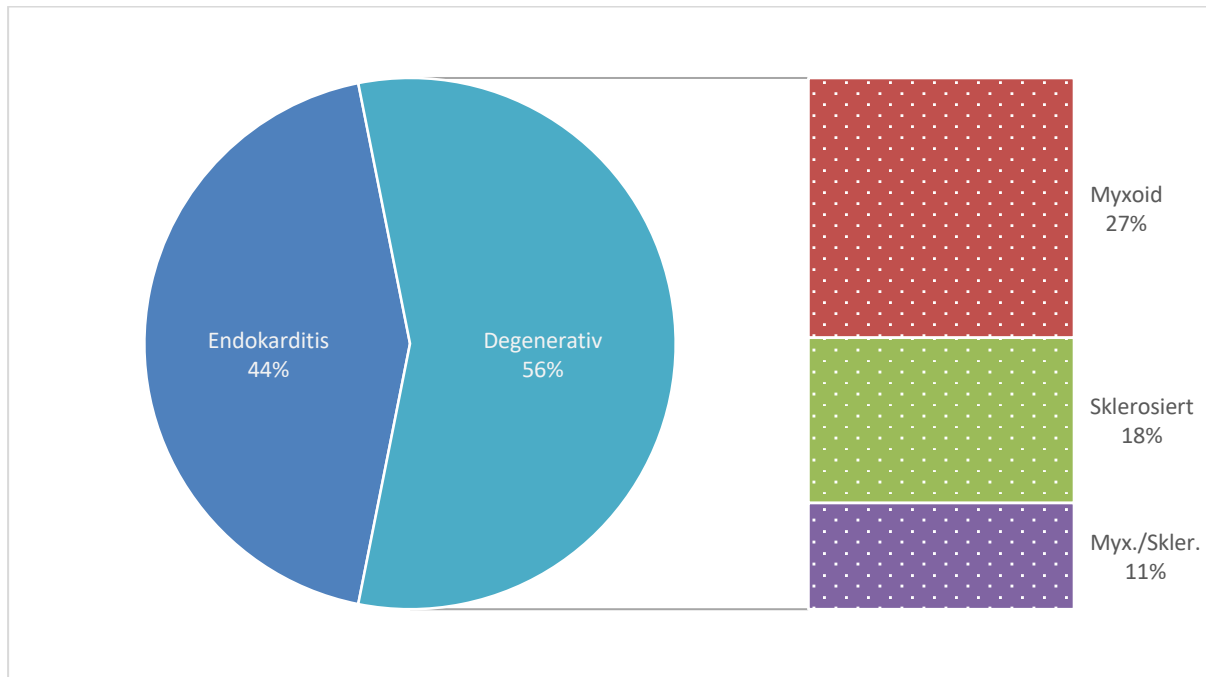


Abbildung 10: Aufteilung der untersuchten Klappen nach Ätiologie

Tabelle 4: Chirurgische Therapieform im Verhältnis zum pathologischen Befund (Anzahl Patienten)

		Rekonstruktion	Ersatz	
			Biologisch	Mechanisch
Degenerative Genese	Myxoid	19	0	3
	Sklerosiert	4	9	1
	Myxoid/Sklerosiert	4	1	4
Endokarditis		5	16	14

3.4.7. Komplikationen und postoperativer Verlauf

Bei 33 Patienten dauerte der Intensiv-Aufenthalt zwischen 4 und 6 Tagen und verlief ohne relevante Komplikationen. Bei 47 Patienten sind postoperative Komplikationen aufgetreten. Diese waren u.a. Nachblutung, Durchgangssyndrom und transitorische respiratorische Insuffizienz. 11 Patienten litten unter schwerwiegenden Komplikationen, darunter neu aufgetretene Herzinsuffizienzen, schwergradige Rythmusstörungen mit Implantation eines Defibrillators/ Herzschrittmachers, akute Niereninsuffizienzen, Leberinsuffizienzen und dauerhafte Pulmonalinsuffizienzen mit der Notwendigkeit einer Tracheotomie. 5 Patienten starben in der ersten postoperativen Woche.

Tabelle 5: Postoperativer Verlauf und Komplikationen

Postoperativer Verlauf	Anzahl Patienten
Komplikationslos	33 (41,25%)
Leichte Komplikationen	31 (38,75%)
Schwergradige Komplikationen	11 (13,75%)
Tod	5 (6,25%)

4. Ergebnisse

4.1. Verteilung der Expression von MMPs und ihren Gewebeinhibitoren

4.1.1. MMP-1

In allen Gewebeproben war ein MMP1-Nachweis vorhanden. Auf eine Null-Bewertung bei MMP1 wird daher verzichtet. Abb. 11 stellt die Expression von MMP-1 in den Mitralklappen beispielhaft dar.

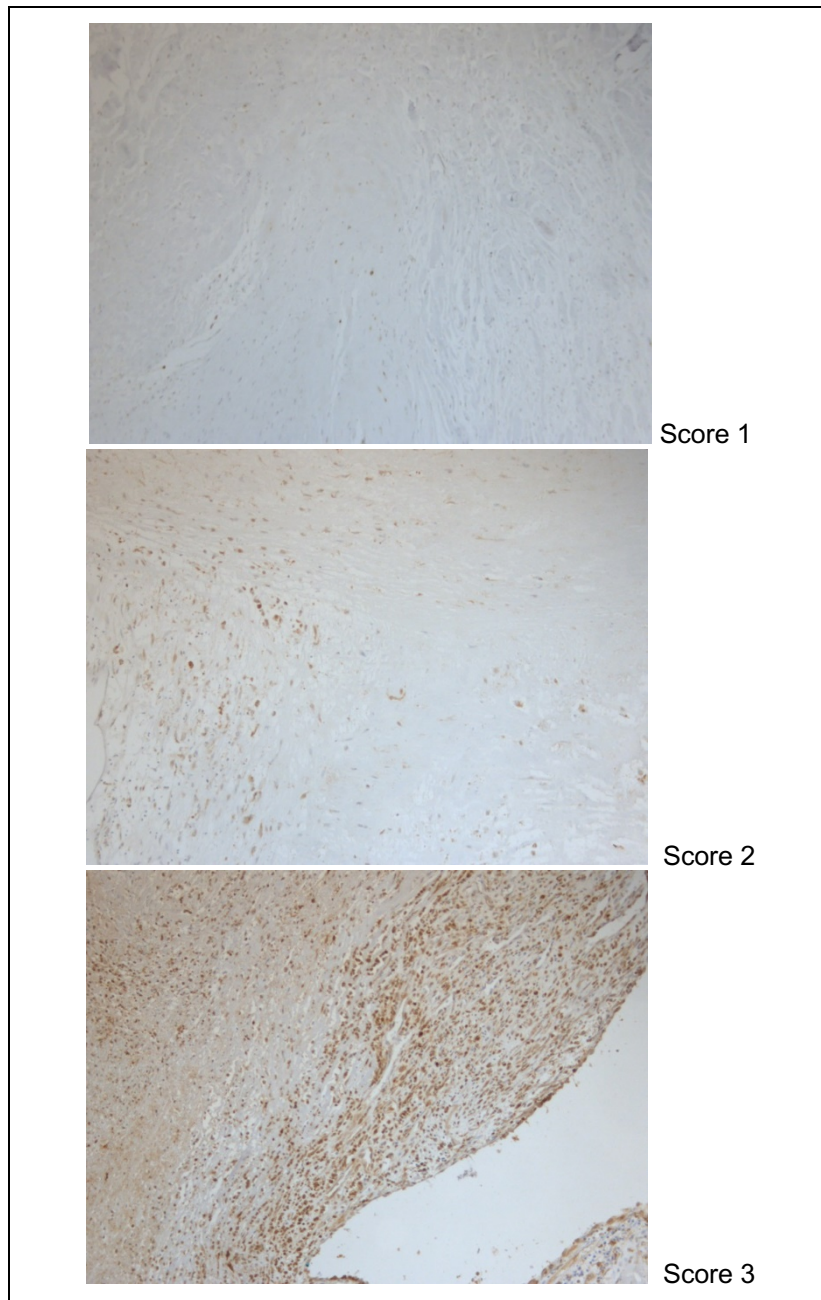


Abbildung 11: Immunhistochemische Bewertung von MMP-1 (1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)

Die Intensitätsverteilung der Expression von MMP-1 im erkrankten Mitralgewebe wird in Abbildung 12 präsentiert. Score 0 wurde in keinem der Fälle vergeben.

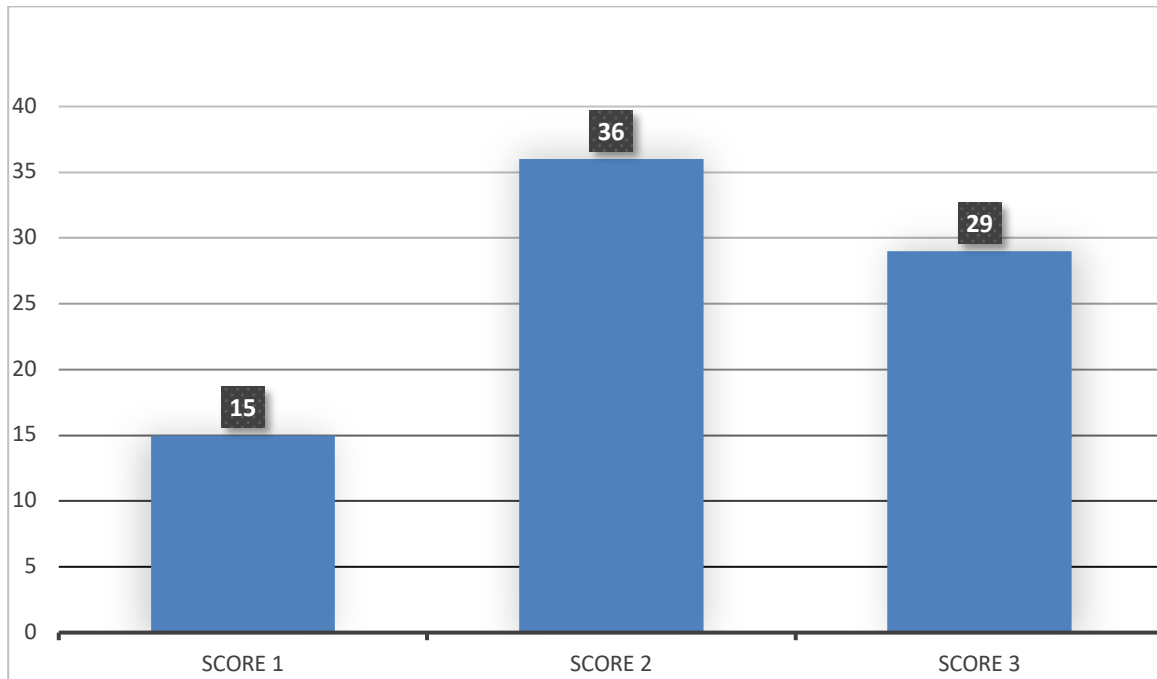


Abbildung 12: Verteilung der MMP-1 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung

4.1.2. MMP-9

Nicht in allen untersuchten Mitralklappen war die Matrixmetalloproteinase 9 nachweisbar. Die Bewertungsskala der Färbungsintensität umfasst daher auch eine 0-Bewertung. Abbildung 13 stellt die Färbungsintensität in den vier Bewertungsstufen beispielhaft dar. In Abbildung 14 wird die Verteilung präsentiert.

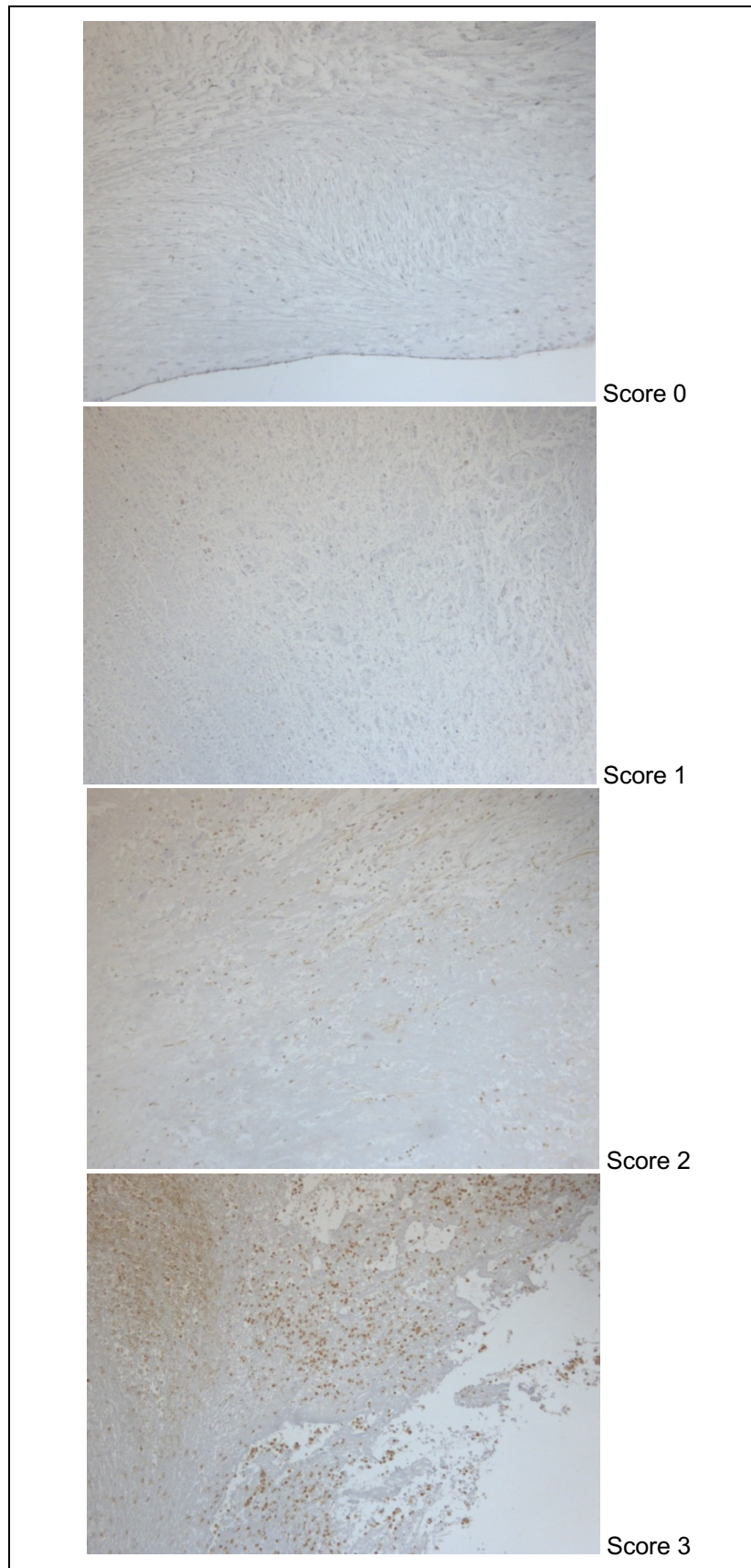


Abbildung 13: Immunhistochemische Bewertung von MMP-9 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)

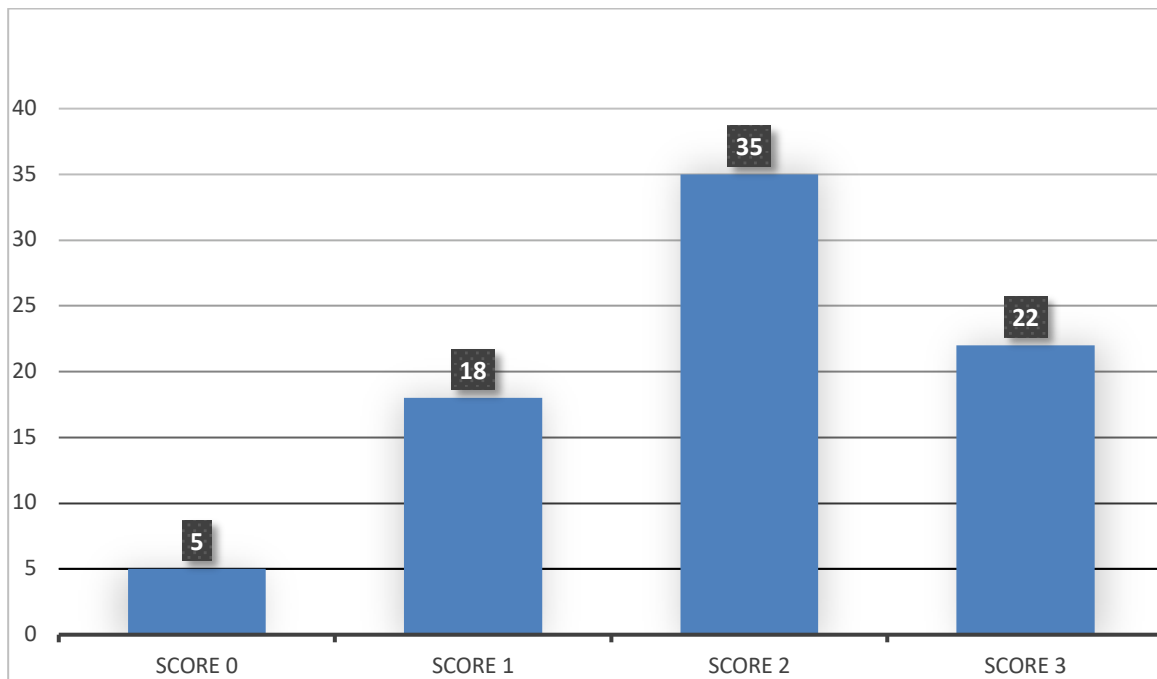


Abbildung 14: Verteilung der Expression von MMP-9 in der immunhistochemischen Untersuchung

4.1.3. TIMP-1

Auch der Tissue Inhibitor TIMP-1 konnte in manchen Präparaten nicht nachgewiesen werden. Beispielhafte Aufnahmen in den vier Intensitätsstufen (Score 0 bis 3) zeigt Abbildung 15. Die Aufteilung der betrachteten Patienten nach TIMP-1 Expression wird in Abbildung 16 präsentiert.

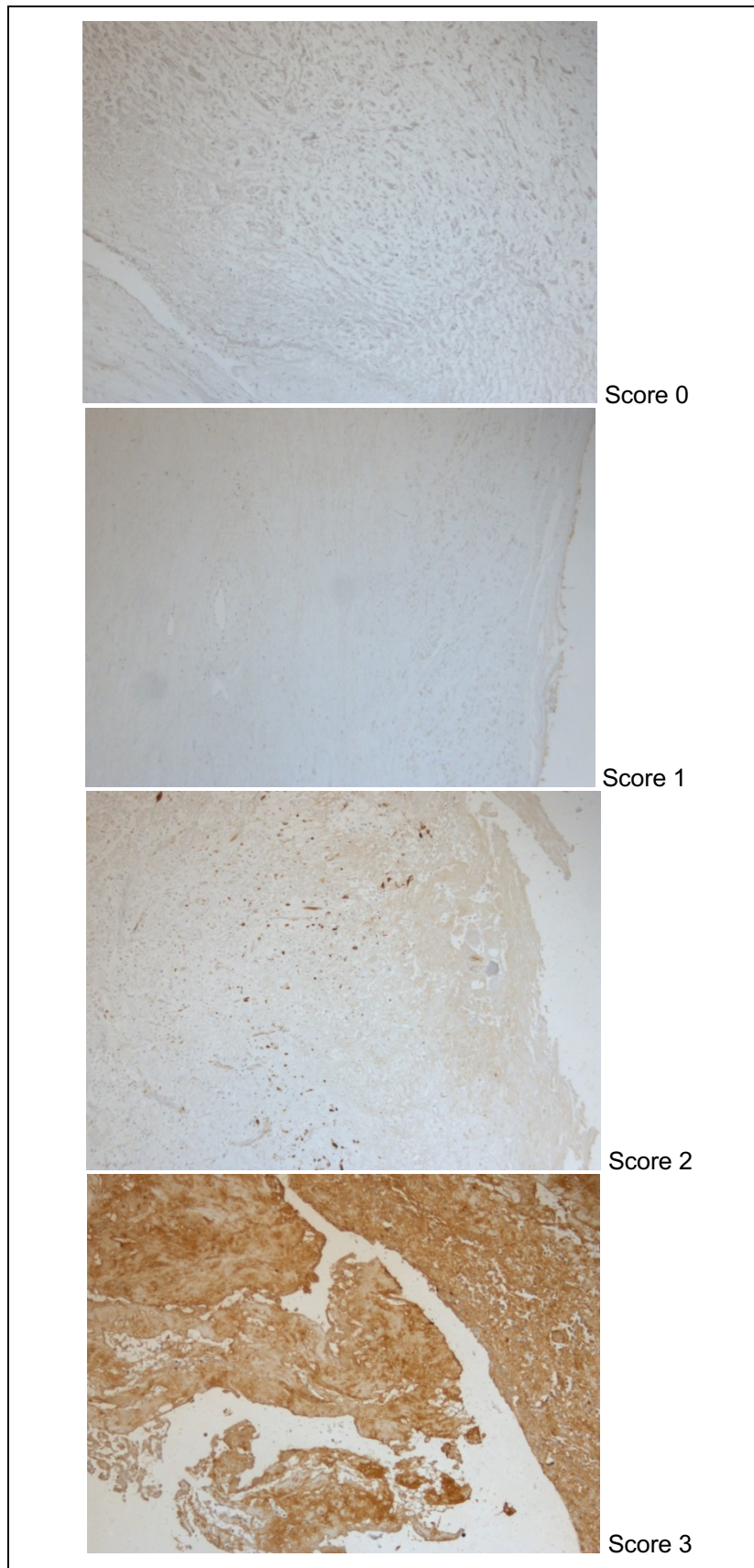


Abbildung 15: Immunhistochemische Bewertung von TIMP-1 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)

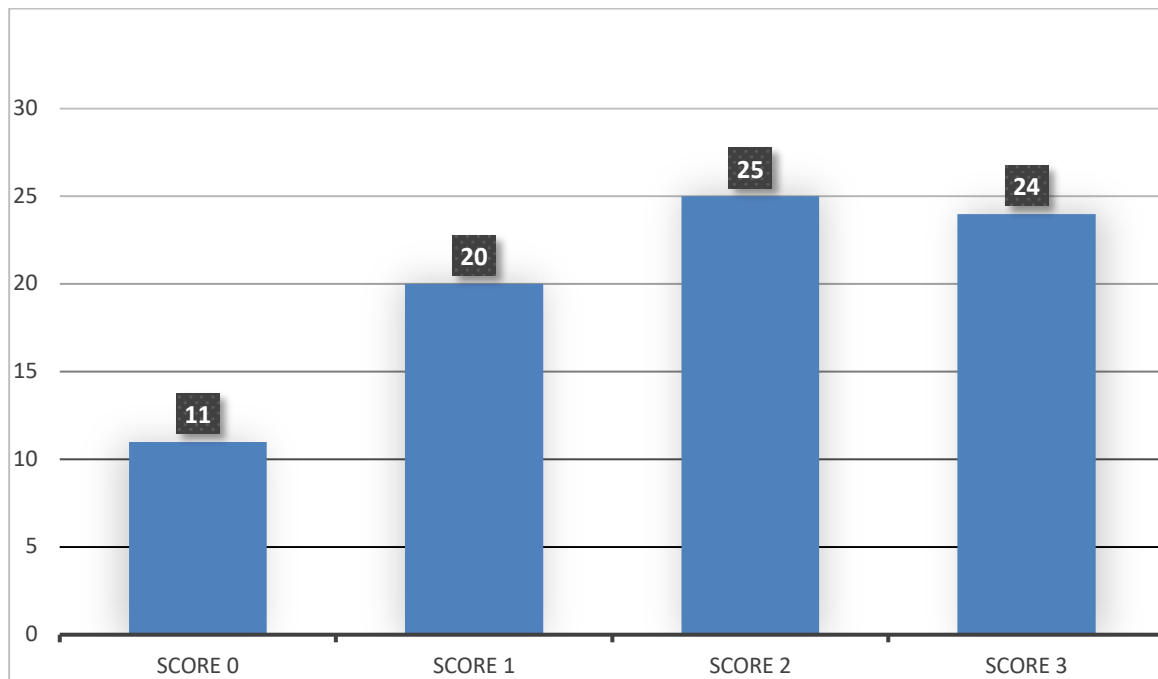


Abbildung 16: Verteilung der TIMP-1 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung

4.1.4. TIMP-2

Die Expression des Tissue Inhibitors TIMP-2 wird ebenfalls je nach Färbungsintensität in einer vierstufigen Skala eingeteilt. Die Skala wird beispielhaft in Abbildung 17 präsentiert. Abbildung 18 zeigt die Verteilung der Patienten nach Stärke der TIMP-2 Expression.

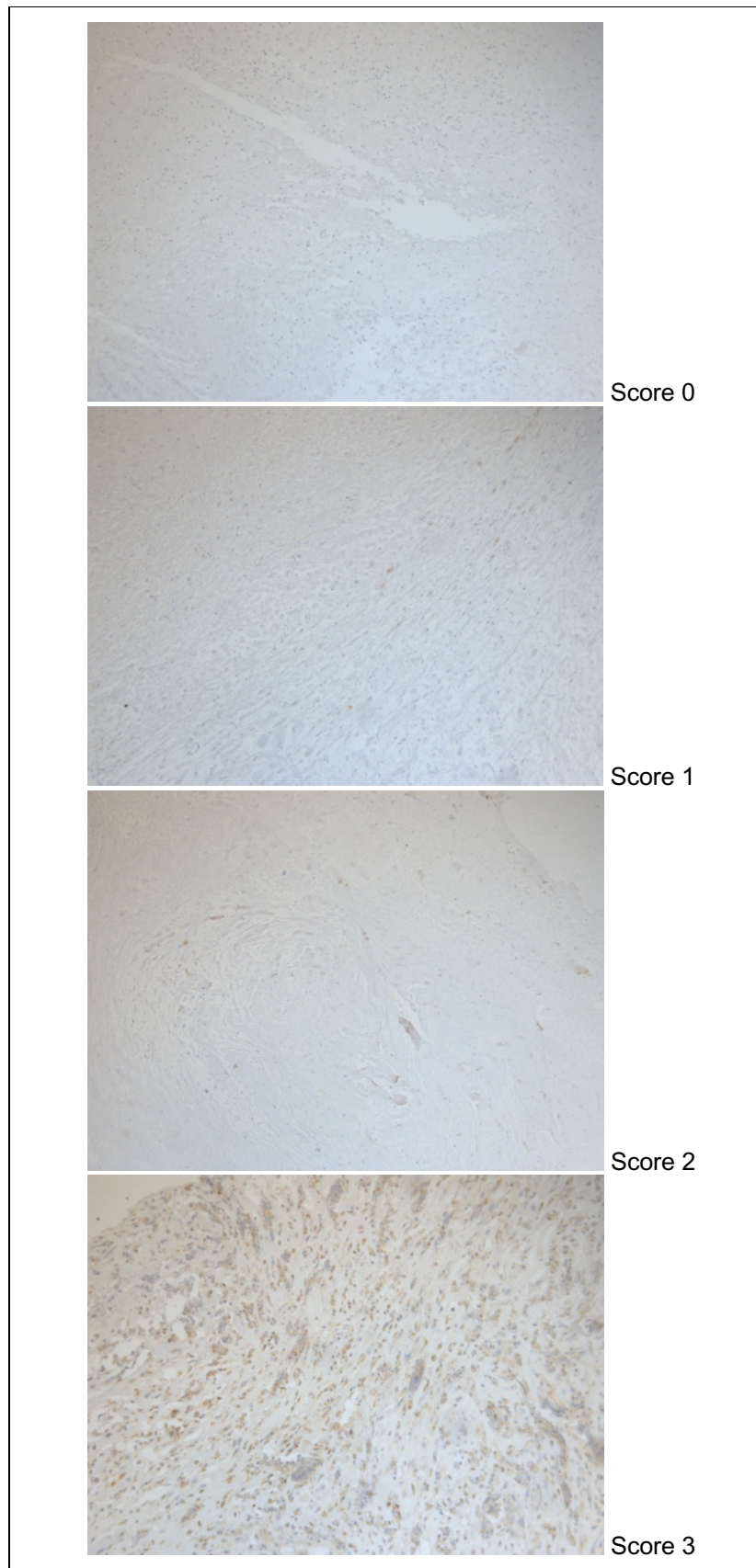


Abbildung 17: Immunhistochemische Bewertung von TIMP-2 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)

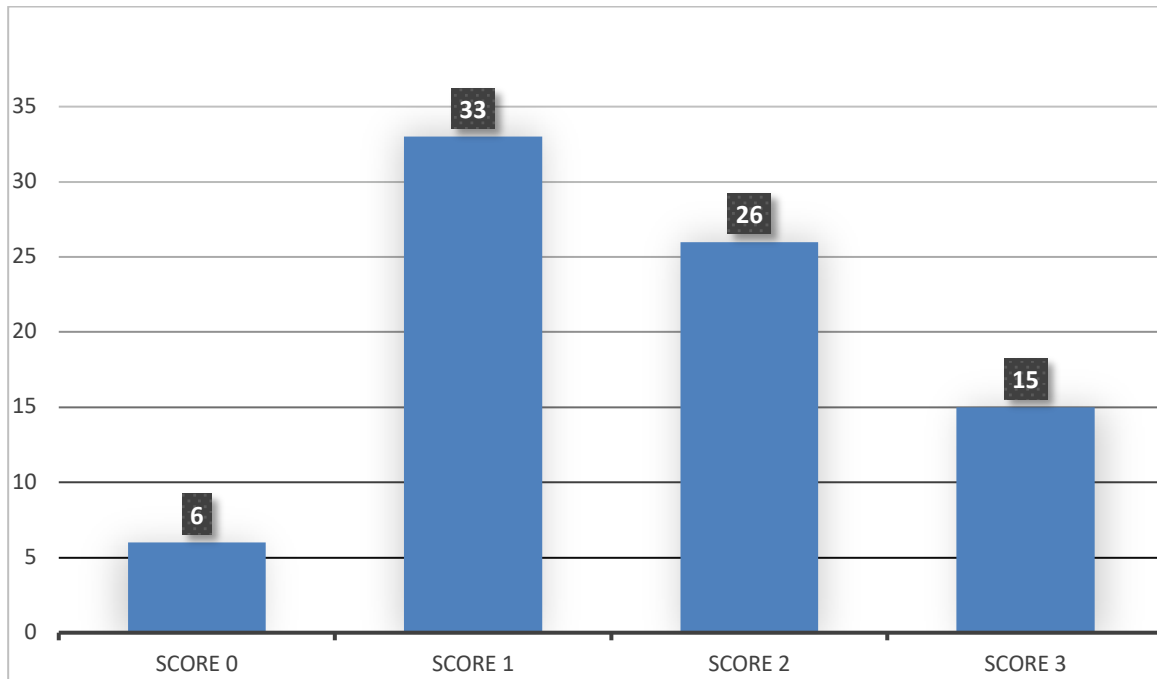


Abbildung 18: Verteilung der TIMP-2 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung

4.1.5. Wechselwirkung zwischen den untersuchten MMPs:

In den untersuchten Mitralgewebepräparaten hat sich eine Übereinstimmung in der Stärke der Expression von MMPs gezeigt. In 31 Präparaten (38,7%) ergab sich für MMP1, MMP9, TIMP1 und TIMP2 sogar ein identischer Färbungsscore. Mit einer größeren Aufteilung der Färbungsintensität in zwei Gruppen (schwach für Score 0 und 1 und stark für Score 2 und 3) erhöht sich die Anzahl der Präparate mit gleicher Bewertung für alle MMPs auf 42 (52,5%).

Eine besonders starke Wechselbeziehung zeigte sich zwischen MMP-1 und MMP-9. Bei 64 Präparaten (80%) stimmte die Stärke der Expression von MMP-1 und MMP-9 überein. Eine ähnliche Assoziation wurde zwischen TIMP-1 und MMP-1 festgestellt (Übereinstimmung in 77,5% der Fälle).

Weniger ausgeprägt ist die Wechselwirkung zwischen MMP-9 und TIMP-1 (67,5% Übereinstimmung), MMP-1 und TIMP-2 (65% Übereinstimmung), und zwischen MMP-9 und TIMP-2 (72,5% Übereinstimmung). Abbildung 19 stellt die jeweiligen Verhältnisse zwischen den MMP-Expressionen dar.

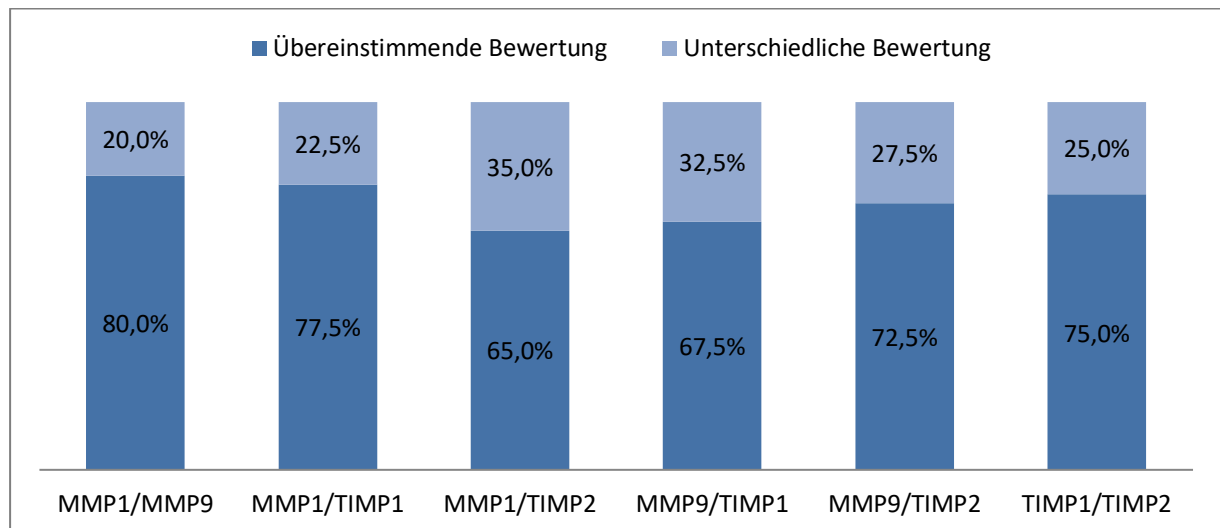


Abbildung 19: Gemeinsame Expressionen von MMPs und TIMPs (basierend auf zwei Intensitätsstufen: schwach und stark)

4.2. Zusammenhang zwischen MMPs und ihren Inhibitoren und dem echokardiographischen Grad der Mitralklappeninsuffizienz

4.2.1 MMP-1 und MI-Schweregrad

In den Mitralklappenpräparaten der Patienten, bei denen eine leichtgradige Mitralklappeninsuffizienz in der Echokardiographie diagnostiziert wurde, ergab sich immunhistochemisch eine erhöhte MMP-1 Expression. In der o.g. Gruppe wurden 75% der Patienten dem Score 3 und 25% dem Score 2 eingeteilt. Score 1 wurde bei keinem der Patienten vergeben.

Mit steigendem Mitralklappeninsuffizienzgrad steigt die Häufigkeit des Score 1 bei rückläufiger Häufigkeit von Score 2 und 3. Bei den Patienten mit Mitralklappeninsuffizienzgrad 2 wurde in 11,1% der Fälle ein MMP-1 Score von 1, in 51,8% der Fälle ein Score von 2 und in 37% der Fälle ein Score 3. Bei vorliegender Mitralklappeninsuffizienz 3. Grades beliefen sich die Werte auf respektive 26,6%, 44,4% und 28,8%. Es zeigte sich statistisch eine Linear-by-Linear Assoziation mit einem Signifikanzniveau von 0,008.

Abbildung 20 stellt die Zusammenhänge graphisch dar.

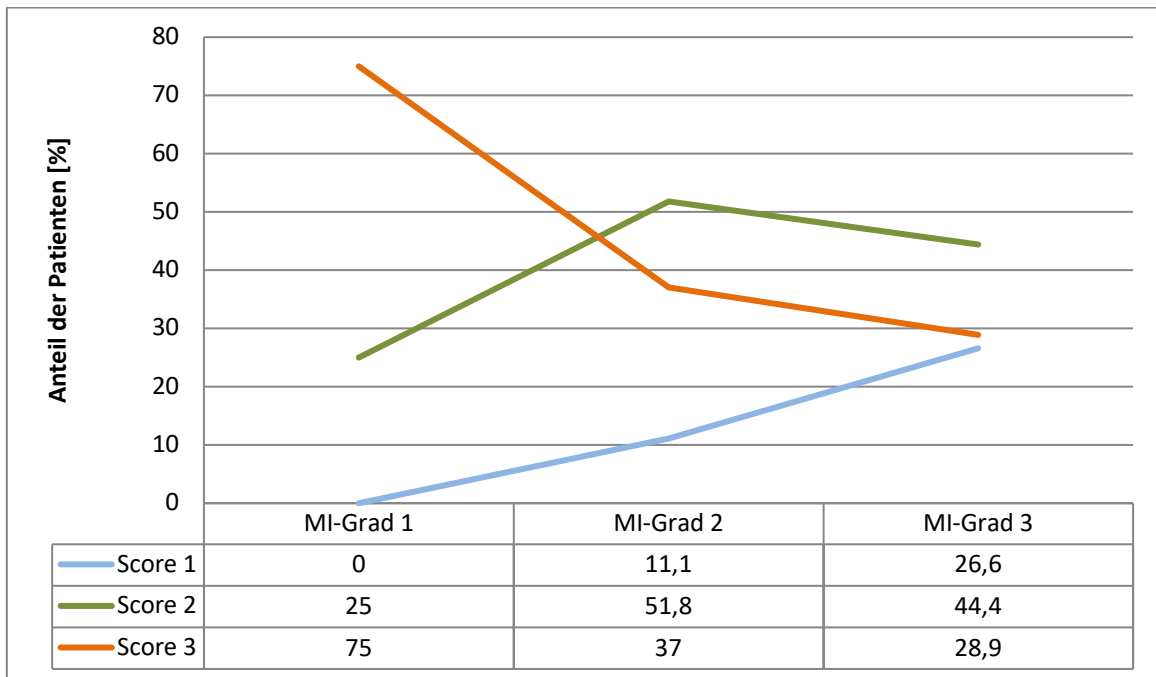


Abbildung 20: Anteile der MMP-1 Scores in Abhängigkeit vom Mitralklappeninsuffizienzgrad

4.2.2. MMP-9 und MI-Schweregrad

Die Verteilung der MMP-9-Expression ähnelt der von MMP-1. Der lineare Zusammenhang ist jedoch weniger eindeutig. Die MMP-9-Verteilung in Abhängigkeit vom echokardiographischen Mitralklappeninsuffizienzgrad wird in Abbildung 21 präsentiert. Eine statistisch signifikante Linear-by-Linear Assoziation kann auch hier bestätigt werden (Signifikanzniveau = 0,019). Die MMP-9-Expression nimmt daher mit steigendem Mitralklappeninsuffizienzgrad ab.

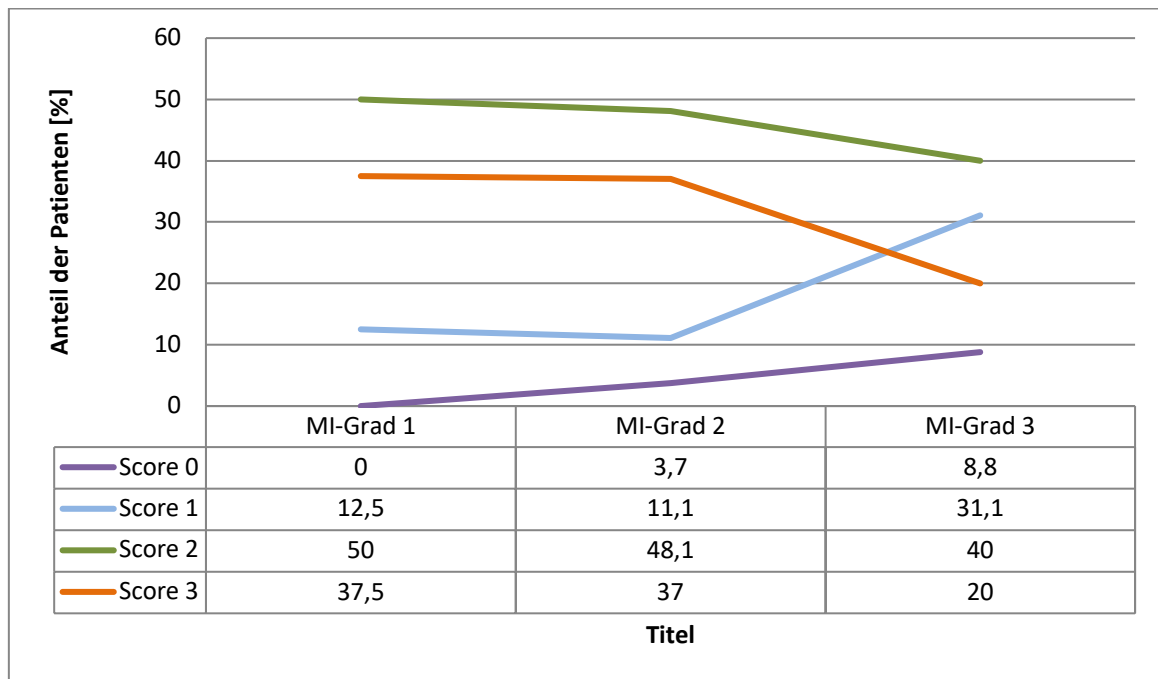


Abbildung 21: Anteile der MMP-9 Scores in Abhängigkeit vom Mitralklappeninsuffizienzgrad

4.2.3. TIMP-1 und MI-Schweregrad

Auch im Verhältnis zwischen TIMP-1 Expression und Schweregrad der Mitralklappeninsuffizienz kann ein Bezug bestätigt werden. Die TIMP-1 Expression nimmt mit steigendem Schweregrad ab. Der Score 0 wurde beispielsweise nur bei Patienten mit Schweregrad 3 vergeben. In dieser Gruppe haben ca. 60% der Patienten einen Score von 0 oder 1. Bei den Patienten mit leichtgradiger Mitralklappeninsuffizienz (Grad 1) haben dagegen 87,5% einen Score von 2 oder 3. Es zeigte sich eine statistisch signifikante Linear-by-Linear Assoziation mit einem Signifikanzniveau von 0,000.

Abbildung 22 zeigt die genaue Verteilung der TIMP-1 Expression in Abhängigkeit vom Schweregrad der Mitralklappeninsuffizienz.

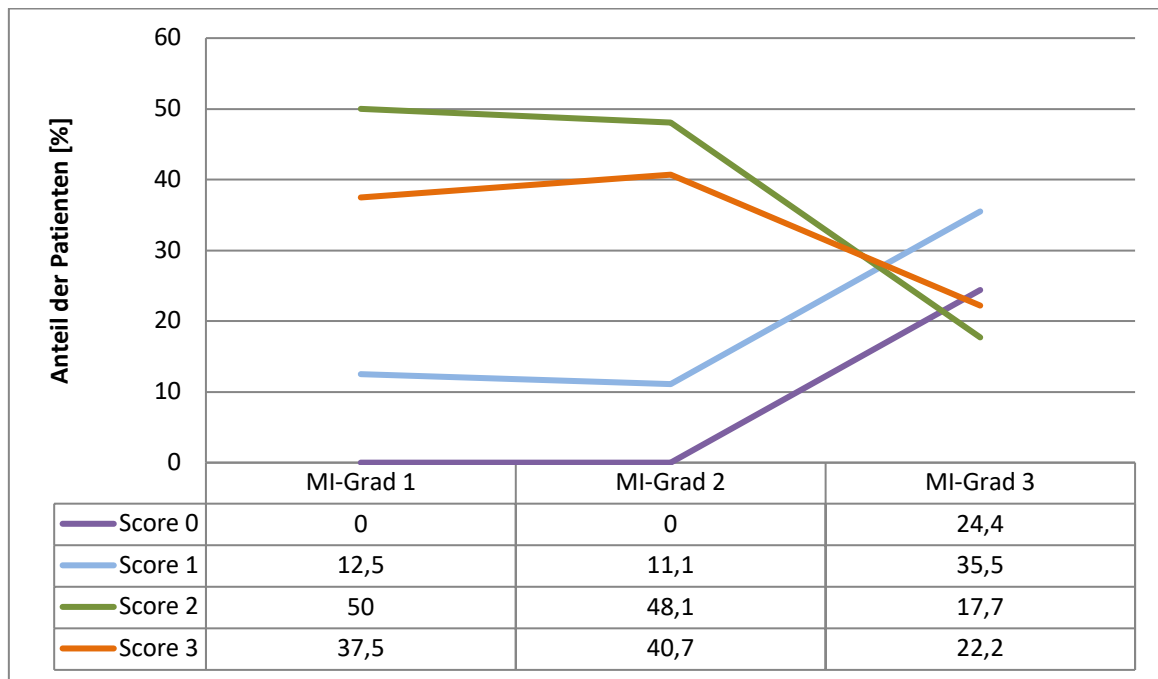


Abbildung 22: TIMP-1 Score in Abhängigkeit vom Mitralklappeninsuffizienzgrad

4.2.4. TIMP-2 und MI-Schweregrad

Ein ähnlicher Zusammenhang konnte auch zwischen der TIMP-2 Expression und dem Mitralklappeninsuffizienzgrad festgestellt werden. Bei schwergradigen Insuffizienzen sind niedrige TIMP-2 Scores stärker ausgeprägt (68,9% der Patienten haben einen Score von 0 oder 1). Höhere TIMP-2 Expressionen wurden hingegen bei leichtgradigen Mitralklappeninsuffizienzen festgestellt (62,5% der Patienten haben einen Score von 2 oder 3). Das Signifikanzniveau des Zusammenhangs beträgt 0,002. In Abbildung 23 wird die Verteilung im Detail präsentiert.

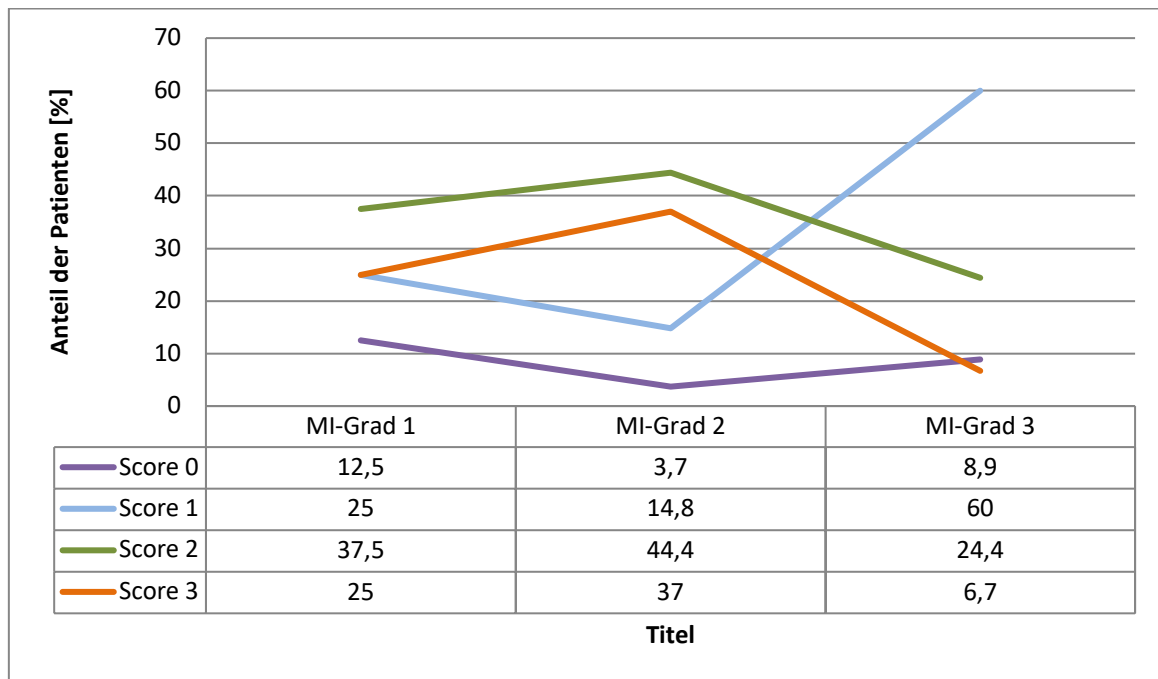


Abbildung 23: Anteile der TIMP-2 Scores in Abhängigkeit vom Mitralklappeninsuffizienzgrad

4.3. Zusammenhang zwischen MMPs und ihren Inhibitoren und der Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz

4.3.1. MMP-1 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz

Bei den meisten Präparaten von Patienten mit Endokarditis lässt sich eine erhöhte Expression von MMP-1 nachweisen. 65,7% der Präparate wurden mit Score 3 bewertet. Bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz wurden dagegen nur 13,3% der Präparate mit Score 3 bewertet (gegen 31,1% Score 1, 55,5% Score 2). Der Unterschied zwischen den beiden Ätiologien ist statistisch signifikant ($p = 0,000$).

Tabelle 6: Verteilung der MMP-1 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie

		MMP1		
		1	2	3
Ätiologie	Endokarditis	2,8%	31,4%	65,7%
	Degenerative MI	31,1%	55,5%	13,3%

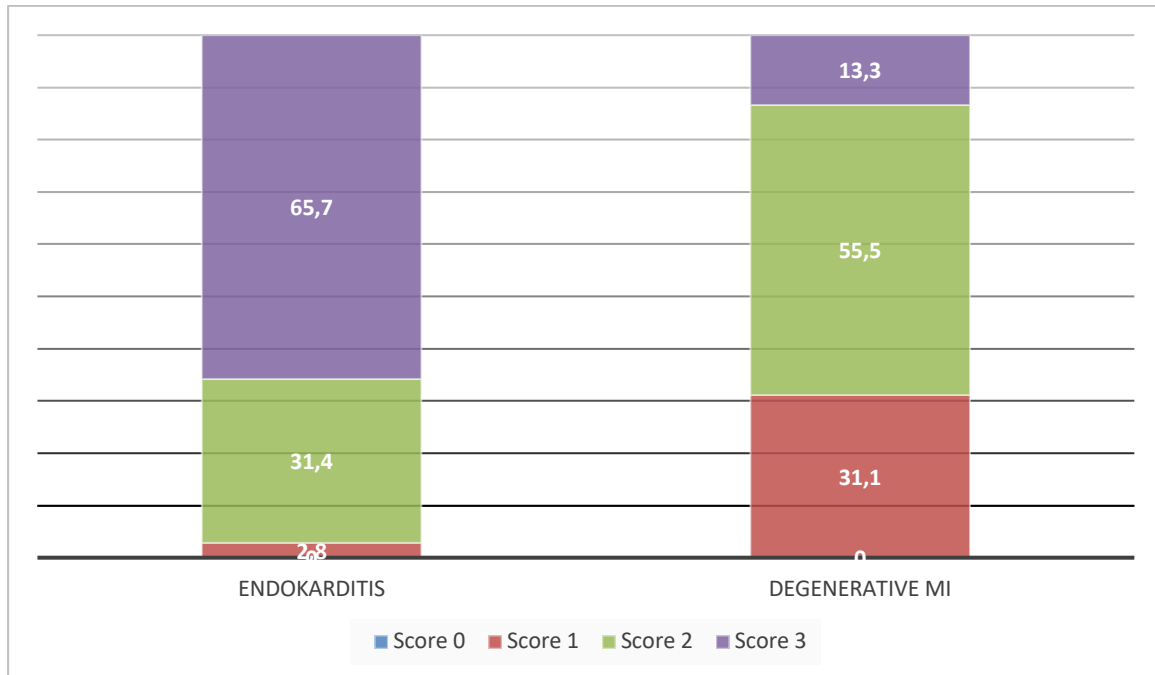


Abbildung 24: MMP-1 Score in Abhängigkeit von der Ätiologie

4.3.2. MMP-9 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz

Die MMP-9 Expression verteilt sich wie folgt: 8,5% der Endokarditis Präparate haben keine MMP-9 Expression, 11,4% haben den Score 1, 34,2% haben den Score 2 und 45,7% den Score 3. Bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz wurden 4,4% mit Score 0 bewertet, 31,1% mit Score 1, 51,1% mit Score 2 und 13,3% mit Score 3.

Tabelle 7: Verteilung der MMP-9 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie

		MMP9			
		0	1	2	3
Ätiologie	Endokarditis	8,5 %	11,4 %	34,2 %	45,7 %
	Degenerative MI	4,4 %	31,1 %	51,1 %	13,3 %

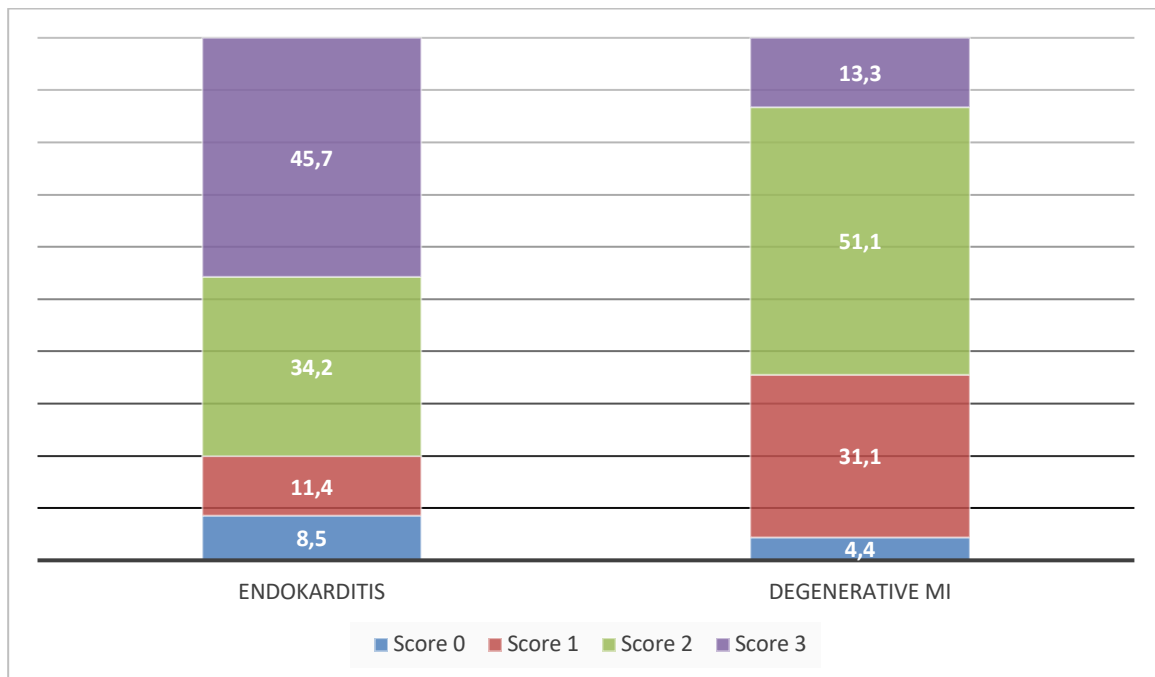


Abbildung 25: MMP-9 Score in Abhängigkeit von der Ätiologie

4.3.3. TIMP-1 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz

Bei den Präparaten der Patienten mit Endokarditis wurde eine höher ausgeprägte TIMP-1 Expression festgestellt (88,6% haben Score 2 oder 3). Bei den degenerativen Mitralklappeninsuffizienzen waren hingegen die niedrigeren TIMP-1 Scores häufiger präsent (ca. 60% haben Score 0 oder 1). Der beschriebene Unterschied zwischen den Ätiologien ist statistisch signifikant.

Tabelle 8: Verteilung der TIMP-1 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie

		TIMP1			
		0	1	2	3
Ätiologie	Endokarditis	0%	11,4 %	34,3 %	54,3 %
	Degenerative MI	24,4 %	35,5 %	28,9 %	11,1 %

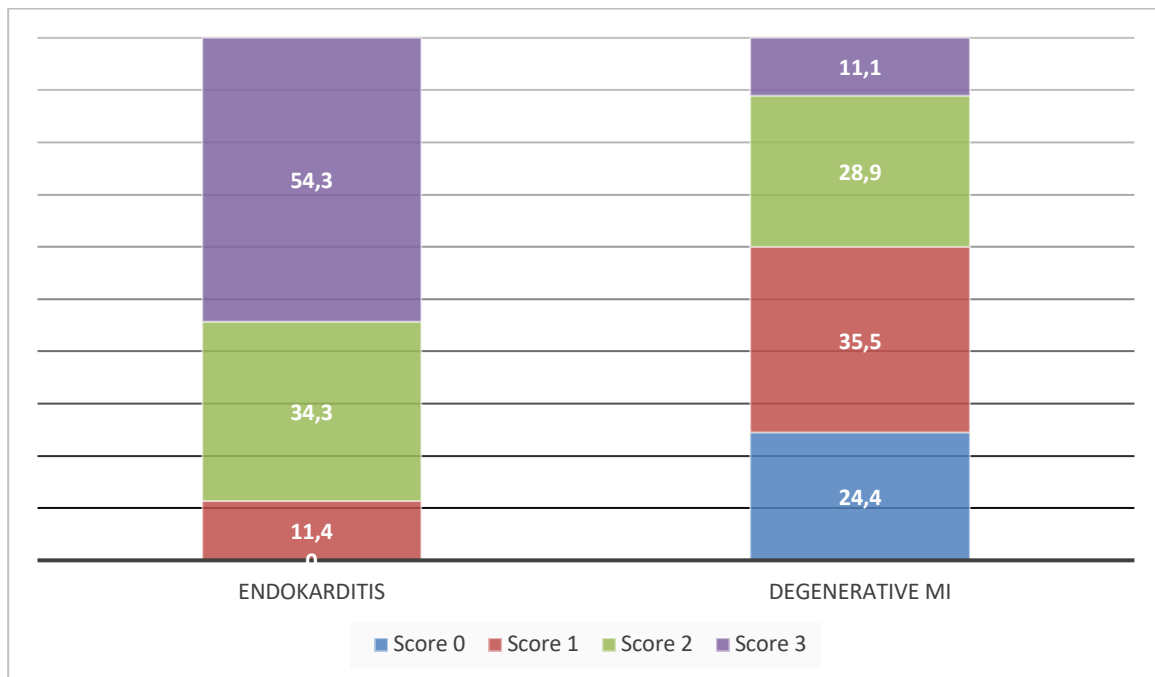


Abbildung 26: TIMP-1 Score in Abhängigkeit von der Ätiologie

4.3.4. TIMP-2 und Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz

11,4% der Endokarditis Präparate haben keine TIMP-2 Nachweis, 25,7% haben den Score 1, 28,5% haben den Score 2 und 34,3% den Score 3. Bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz wurden 4,4% mit Score 0 bewertet, 53,3% mit Score 1, 35,5% mit Score 2 und 6,6% mit Score 3.

Tabelle 9: Verteilung der TIMP-2 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie

		TIMP2			
		0	1	2	3
Ätiologie	Endokarditis	11,4%	25,7%	28,5%	34,3%
	Degenerative MI	4,4%	53,3%	35,5%	6,6%

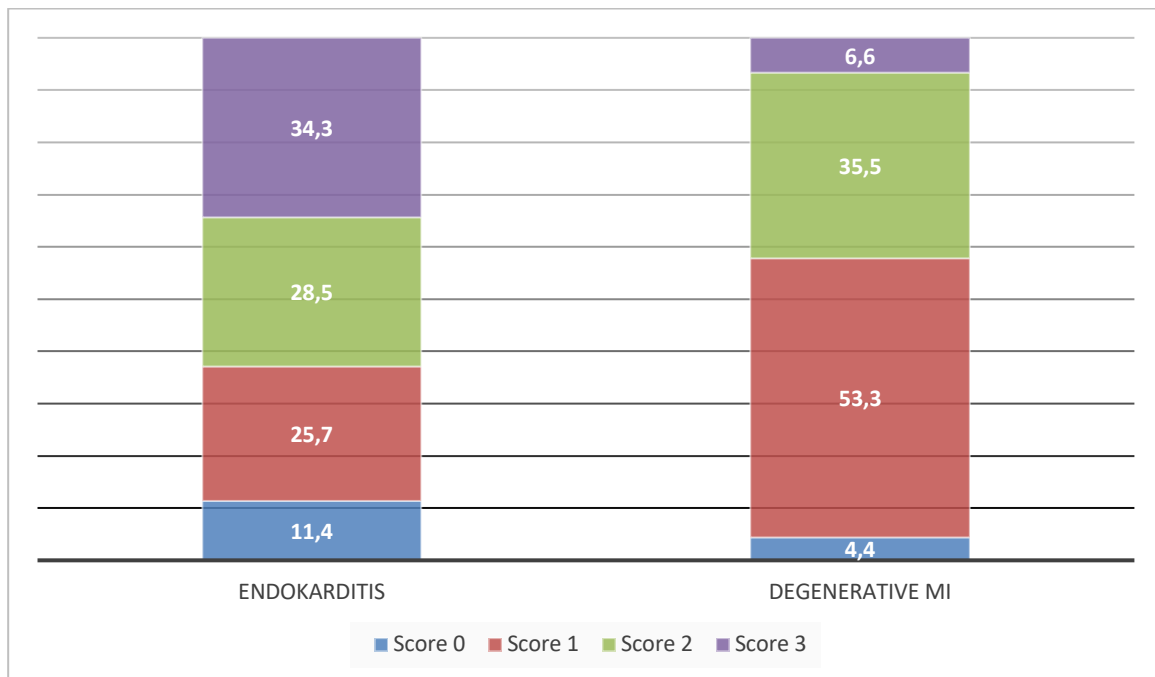


Abbildung 27: TIMP-2 Score in Abhängigkeit von der Ätiologie

4.3.5. Verteilung der MMPs und ihrer Inhibitoren bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz:

Die histologisch untersuchten degenerativen Mitralklappenpräparate wurden in 3 verschiedenen subgruppen in Abhängigkeit von dem pathologischen Befund unterteilt: myxoide Klappeninsuffizienz, sklerosierte Mitralklappe und myxoid-sklerosierte Klappe. Es zeigte sich in der statistischen Bewertung kein signifikanter Unterschied in der Verteilung der MMPs und ihrer Inhibitoren zwischen sklerosierter MI, myxoider MI und gemischter sklerosiert und myxoider Mitralklappe (das Signifikanzniveau betrug $>0,05$)

4.4. Einfluss der Nebendiagnosen auf die Expression von MMPs und deren Inhibitoren

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Expression von MMPs und deren Inhibitoren in Abhängigkeit von den Nebendiagnosen (arterielle Hypertonie, Vorhofflimmern und KHK). Die Verteilung der Expression von Matrix-Metalloproteinasen in Abhängigkeit von den Nebendiagnosen wird in Tabelle 10 präsentiert.

Tabelle 10: Verteilung der Matrix-Metalloproteinasen und ihre Inhibitoren in Abhängigkeit von arterieller Hypertonie, Vorhofflimmern und KHK

		MMP-1			MMP-9				TIMP-1				TIMP-2			
Score		1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3
Arterielle Hypertonie	nein	9	14	16	4	10	15	10	5	7	13	14	3	16	11	9
	ja	6	22	13	1	8	20	12	6	13	12	10	3	17	15	6
Vorhofflimmern	nein	5	18	18	3	6	18	14	3	10	13	15	3	13	14	11
	ja	10	18	11	2	12	17	8	8	10	12	9	3	20	12	4
KHK	nein	12	23	14	5	11	21	12	7	13	14	15	2	19	20	8
	ja	3	10	7	0	5	7	8	4	5	5	6	3	10	3	4

4.5. Einfluss der Expression von MMPs und deren Inhibitoren auf die postoperativen Komplikationen

Es ergab sich in der statistischen Untersuchung mittels Chi²-Test kein Zusammenhang zwischen der Expression von MMP-1, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 und dem postoperativen Verlauf. Komplikationslose Verläufe sowie Fälle mit leichten und schweren Komplikationen zeigten keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf die Expression von MMPs und deren Inhibitoren.

5. Diskussion

5.1. MMPs als Marker des pathologischen Umbaus bei der Mitralklappeninsuffizienz

In der vorliegenden Arbeit wurden in den meisten untersuchten Mitralklappen beide Matrix-Metalloproteasen (MMP-1 und MMP-9) sowie beide Inhibitoren (TIMP-1 und TIMP-2) gefunden. Besonders interessant ist hierbei die Präsenz von MMP-9 in der erkrankten Mitralklappe. Eine Untersuchung von Dreger et al. hatte zuvor gezeigt, dass MMP-9 im Gegensatz zu MMP-1, TIMP-1 und TIMP-2 in der gesunden humanen Mitralklappe nicht zu finden ist (Dreger et al. 2002).

Eine veterinär-medizinische Studie erzielte ähnliche Ergebnisse im Hinblick auf die Trikuspidalklappe. Der Vergleich zwischen gesunden und chronisch erkrankten Trikuspidalklappen bei Hunden zeigte, dass MMP-9 nur in erkrankten Klappen nachweisbar ist (Aupperle et al. 2010).

Die verstärkte Präsenz von MMP-9 im Rahmen kardiovaskulärer pathologischer Prozesse wurde bereits in Zusammenhang mit anderen Erkrankungen, wie arterieller Hypertonie, Atherosklerose und Myokardinfarkt berichtet. Die Proteinase wird daher in den letzten Jahren verstärkt als potentieller Biomarker erforscht (Yabluchanskiy et al. 2013).

Die Präsenz von MMP-9 ausschließlich im erkrankten Mitralklappengewebe könnte auf ihre Rolle im pathologischen Umbauprozess, der zur Mitralklappeninsuffizienz führt, hindeuten. Der MMP-9-Nachweis könnte sich daher, wie bei ähnlichen kardiovaskulären Erkrankungen, als Marker eines pathologischen Zustands der Mitralklappe eignen.

5.2. Die komplexe Rolle der Gewebe-Inhibitoren in der Mitralklappeninsuffizienz

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen der Expression von Matrix-Metalloproteasen und ihren Inhibitoren in erkrankten Mitralklappen errechnet. Eine erhöhte Expression von MMP-1 war mit einer erhöhten Expression von TIMP-1 verbunden und umgekehrt. Ein ähnliches Verhältnis bestand zwischen MMP-9 und TIMP-1, MMP-1 und TIMP-2, sowie zwischen MMP-9 und TIMP-2.

Da TIMPs allgemein als spezifische Inhibitoren der Matrix-Metalloproteasen gelten (Visse und Nagase 2003, Bourbonliou und Stetler-Stevenson, 2010), widerspricht die gezeigte positive Korrelation der natürlichen Vermutung, dass eine ausgeprägte Präsenz der Inhibitoren mit einer niedrigen Expression der MMPs verbunden sein soll.

Zusätzlich zur Inhibition der Matrix-Metalloproteinasen haben die TIMPs weitere Funktionen. Es wurde z.B. gezeigt, dass diese eine Rolle in der Hemmung der Angiogenese und in der Einleitung der Apoptose spielen (Lambert et al. 2004). Außerdem wurde in einer Untersuchung von biopsiertem Myokardgewebe bei Aortenstenose gezeigt, dass eine erhöhte Expression von TIMP-1 und TIMP-2 mit kardialer Fibrose und Dysfunktion bei chronisch druckbelasteten Herzen assoziiert ist (Heymans et al. 2005). Ein direkter Einfluss der TIMPs auf den pathologischen Prozess der Mitralklappendestruktion bei der Mitralklappeninsuffizienz, der über ihre MMP-Hemmungsfunktion hinausgeht, ist in diesem Zusammenhang nicht auszuschließen.

Die TIMPs spielen unter Umständen sogar eine Aktivierungsrolle für MMPs. Bernardo und Fridman zeigten beispielsweise, dass TIMP-2 wesentlich zur Aktivierung von Pro-MMP-2 beiträgt (Bernardo und Fridman 2003). Die Aktivierung erfolgt durch eine Komplex-Bildung zwischen Pro-MMP-2, TIMP-2 und MT1-MMP (Brew and Nagase, 2010). TIMP-2 kann daher sowohl Hemmer als auch Aktivator für MMP2 sein. Diese beiden Funktionen können simultan erfolgen und zu einem komplexen Umbau der extrazellulären Matrix führen (Spinale et al, 2014). Ein ähnliches Verhältnis zwischen TIMP-1 und MMP-1 bzw. MMP-9 würde im Rahmen des komplexen Regulierungsprozesses bei der Mitralklappendegradation die simultane Expression von MMPs und TIMPs erklären.

Eine weitere noch nicht erforschte Hypothese besteht darin, dass die Synthese der untersuchten TIMPs durch eine erhöhte Expression von MMPs stimuliert werden könnte. Die Synthese von TIMPs wäre in diesem Fall ein Kompensationsmechanismus, um die Degradation der Mitralklappe durch eine Hemmung der MMPs zu verhindern.

5.3. MMPs als Indikator des Schweregrades einer Mitralklappeninsuffizienz

Eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen der Expression der Matrix-Metalloproteasen und dem Mitralklappeninsuffizienzgrad wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt. In Klappen mit MI-Grad 1 waren in über 80% der Fälle die Matrix-Metalloproteasen

und ihre Inhibitoren stark exprimiert. Umgekehrt waren in Klappen mit MI-Grad 3 die MMPs und ihre Inhibitoren vorwiegend schwach ausgeprägt oder nicht nachweisbar.

Bisherige Untersuchungen des Verhältnisses von MMPs und ihren Inhibitoren zum Schweregrad kardiovaskulärer Erkrankungen kamen je nach Pathologie zu unterschiedlichen Ergebnissen. Manche Studien haben festgestellt, dass das Serum-Niveau einiger Matrixine parallel zur Schweregrad-Erhöhung steigt. Es zeigte sich zum Beispiel eine positive Korrelation zwischen MMP-9 und TIMP-1-Expression und NYHA-Grad bei chronischer Herzinsuffizienz (Morishita et al, 2017). Bei koronarer Herzerkrankung wurde eine positive Korrelation zwischen Serum-Wert von MMP-9 und Zahl der stenosierten Koronararterien gezeigt (Guo et al, 2014).

Weitere aktuelle Studien haben hingegen festgestellt, dass ein Mangel an bestimmten Matrixinen mit der pathologischen Entwicklung verbunden ist. Kandalam et al. haben beispielsweise gezeigt, dass ein TIMP2-Mangel mit der Verschlimmerung der kardialen Dysfunktion nach einem biomechanischen Stress korreliert (Kandalam et al. 2011). Außerdem haben Lin et al. bewiesen, dass ein Mangel an TIMP-2 mit dem Anstieg von Todes- und Herzversagensrate nach Mitralklappenoperationen verbunden ist (Lin et al. 2014).

Die negative Assoziation, die in unserer Studie festgestellt wurde, könnte dadurch erklärt werden, dass die Matrixine und ihre Inhibitoren im Rahmen eines dynamischen Destruktionsprozesses interagieren: In den frühen Phasen der Mitralklappeninsuffizienz beschleunigt die hohe Präsenz der Matrix-Metalloproteasen die Destruktion der Klappe. In den späteren Phasen, wo die Zerstörung der Klappe beinahe vollständig ist, würde die Synthese von Matrix-Metalloproteasen und ihren Inhibitoren eine untergeordnete Rolle spielen, was die schwache Ausprägung ihrer Expression erklären könnte. Eine niedrige Expression der untersuchten MMPs und TIMPs könnte daher bei bekannter Mitralklappeninsuffizienz als Zeichen eines hohen Schweregrads infrage kommen.

5.4. Erhöhter MMP-Nachweis als Beweis einer stärkeren Mitralklappendestruktion bei Endokarditis

Die Färbungsintensität der MMPs und ihrer Inhibitoren in der Mitralklappe wurde in Abhängigkeit von der Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz analysiert. Es zeigte sich hierbei ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Mitralklappen, die durch eine Endokarditis destruiert waren und denen, die eine degenerative Mitralklappeninsuffizienz aufwiesen. Die untersuchten Matrixine und ihre Inhibitoren waren in den Endokarditis-Präparaten deutlich stärker exprimiert.

Ein ähnlicher Zusammenhang zwischen der Expression von Matrix-Metalloproteasen und dem Vorliegen einer Endokarditis wurde in anderen Studien bereits nachgewiesen (Benoit et al. 2010, Schoen 2008). Eine signifikante Up-Regulation mehrerer MMP-Gene in den Herzklappen während einer infektiösen Endokarditis wurde festgestellt. Konkret handelte es sich in der Studie um die Gene für MMP-12 und MMP-9 (Benoit et al. 2010).

Der Ursprung der erhöhten MMP-Expression liegt im pathophysiologischen Mechanismus der Endokarditis. Es wurde bereits publiziert, dass die Synthese von MMPs u.a. durch inflammatorische Zellen wie neutrophile Granulozyten und Makrophagen erfolgt. Einige Zytokine (IL-1, IL-10), TNF-alpha und andere Wachstumsfaktoren stimulieren ebenfalls die MMP-Synthese (Stamenkovic, 2003). Im Rahmen einer infektiösen Endokarditis, in der ein bestimmter Erreger eine lokale Inflammation des Endokards verursacht, wird eine Immunantwort stimuliert. Mit der Immunantwort ist u.a. die Migration von Monozyten und anderen inflammatorischen Zellen aus der Blutbahn ins Klappengewebe verbunden (Elkington et al. 2005). Diese könnten zur lokalen Synthese der Matrix-Metalloproteinase und somit zur erhöhten Expression im Mitralklappengewebe beitragen.

Bei den degenerativen Herzklappenkrankheiten konnte hingegen bisher keine Stimulation einer Immunantwort und somit keine Migration von Immunzellen ins kardiale Gewebe nachgewiesen werden. Der Degenerationsprozess wird anderen Mechanismen zugeschrieben. Beim Mitralklappenprolaps zum Beispiel wurde eine erhöhte sympathische Aktivität festgestellt. Die Zellen mit erhöhtem Norepinephrin-Gehalt wiesen einen erhöhten totalen MMP2-, MMP9- und einen niedrigeren TIMP2-Spiegel auf. Eine Aktivierung des autonomen Nervensystems könnte demnach beim Mitralklappenprolaps einen Einfluss auf die MMP-Synthese haben (Hu et al. 2014).

Die erhöhte Expression der Matrix-Metalloproteasen bei vorliegender Endokarditis könnte dadurch erklärt werden, dass ein stärkerer Umbau der extrazellulären Matrix und somit eine ausgeprägtere Mitralklappendegradation stattfindet. Bei der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz zeigt sich dagegen eine niedrigere MMP-Synthese, die zu einem schwächer ausgeprägten Umbau der Mitralklappe, und somit zu einem besseren Erhalt der Klappe während des degenerativen Prozesses führen würde.

Der Vergleich von myxoiden und sklerosierten Mitralklappen als Subgruppen der degenerativen Mitralklappeninsuffizienz stellte sich in der vorliegenden Arbeit als Herausforderung dar. In der immunhistologischen Untersuchung der Matrix-Metalloproteinasen ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Expression. Eine histologische Trennung der beiden Prozesse in den untersuchten Mitralklappen erwies sich als schwierig. In einem wichtigen Teil der Mitralklappen waren sowohl myxoide als auch sklerosierte Veränderungen vorhanden. Die Abwesenheit eines signifikanten Unterschiedes zwischen beiden Ätiologien könnte außerdem durch Ähnlichkeiten in den pathophysiologischen Mechanismen der Entstehung der Mitralklappeninsuffizienz erklärbar sein.

5.5. MMPs und Nebendiagnosen (art. Hypertonie, KHK, Vorhofflimmern)

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wechselwirkung zwischen den Matrix-Metalloproteasen und den Nebendiagnosen untersucht. Es ergab sich hierbei kein statistisch signifikanter Unterschied in der Expression von MMPs und ihren Inhibitoren zwischen Patienten mit und ohne Nebendiagnosen. Vorhofflimmern und arterielle Hypertonie zeigten keinen Einfluss auf den MMP-Nachweis in der Mitralklappe.

Die Assoziation zwischen Vorhofflimmern und Matrixmetalloproteasen wurde in mehreren Studien untersucht mit teilweise widersprüchlichen Ergebnissen. Anné et al. sind bezüglich des Vorhofflimmerns zu ähnlichen Ergebnissen wie in der vorliegenden Arbeit gekommen. Ein Vergleich in der MMP-Expression im linken Vorhof zwischen Patienten mit Vorhofflimmern und ohne zeigte, dass Vorhofflimmern keine direkte Rolle in der Entwicklung der Vorhoffibrose und auch in der Expression von MMPs im linken Vorhof bei erkrankter Mitralklappe spielt (Anné et al. 2005). Xu et al. sind zu abweichenden Ergebnissen gekommen und haben gezeigt, dass eine Erhöhung der Expression von MMP-2 im Vorhof

bei Patienten mit Kardiomyopathie mit der Entwicklung und Erhaltung von Vorhofflimmern assoziiert ist (Xu et al. 2004).

In anderen Studien zeigte sich die arterielle Hypertonie als Kofaktor bei der Entstehung der myxomatösen Mitralklappenkrankheit. Lin et al. haben zum Beispiel gezeigt, dass eine erhöhte Expression von TIMP-2 gekoppelt mit einer arteriellen Hypertonie die Wahrscheinlichkeit eines Risses der Chordae Tendinae deutlich erhöht (Lin et al. 2009).

Die Anwesenheit einer koronaren Krankheit zeigte ebenfalls keine Auswirkung auf die Expression von MMPs in der Mitralklappe.

Die Stärke der MMP-Expression zeigte zudem keinen Einfluss auf den postoperativen Verlauf. Hierbei wurde die Zeit direkt nach der Operation bis zur Entlassung berücksichtigt.

5.6. Limitationen der Studie

Eine mögliche Limitation der vorliegenden Arbeit könnte die ungleichmäßige Verteilung der Schweregrade im Patientenkollektiv sein. Da für leichtgradige Insuffizienzen meistens keine OP-Indikation besteht und diese nicht systematisch operiert werden, waren Mitralklappeninsuffizienzen 1. Grades im Gewearchiv und somit im Patientenkollektiv unterrepräsentiert.

Außerdem war bei manchen, relativ jungen Patienten kein Herzkatheter-Befund vorhanden und somit keine Beurteilung der Kranzarterien möglich. Die genannten Patienten konnten daher in der Untersuchung des Zusammenhangs zwischen MMPs und der Präsenz einer KHK nicht betrachtet werden. Die Abwesenheit des Befunds erklärt sich durch die Indikationsstellung des Verfahrens bei Mitralklappenoperationen. Eine Herzkatheteruntersuchung ist demnach erst bei Patienten, die älter als 45 sind, notwendig (Vahanian et al. 2012).

Die Echokardiographie-Befunde wurden den Patienten-Akten entnommen. Eine Limitation dieses Vorgehens ist die Abwesenheit von Bildmaterial, was eine erneute Beurteilung verhindert. Um die Nachteile eines subjektiven Befunds zu verringern, wurden bei der Beurteilung des Schweregrades zusätzlich zu den qualitativen Parametern wie der Morphologie der Mitralklappe und der Jet-Beurteilung weitere semi-quantitative Parameter wie zum Beispiel die Größe der Vena contracta berücksichtigt. Dieses Vorgehen ermöglicht eine objektivere Klassifizierung der Mitralklappeninsuffizienz (Lancellotti et al. 2013). Die Echokardiographie bleibt jedoch trotz aller Bemühungen ein relativ subjektives und

Untersucher-abhängiges Verfahren. Die Messungen unterliegen Limitationen wie der Qualität des Gerätes, den geometrischen Annahmen, der Exzentrizität und der Dynamik des Jets.

Zur Erhöhung der Beurteilungsobjektivität (Obuchowski, 2004) wurden die Mitralkalppenpräparate von 2 Beurteilern unabhängig bewertet (erfahrener Pathologe und Autorin). Der benutzte vier stufige semi-quantitative Score erhöht die Detektionsrate und die Wiederholpräzision des Bewertungssystems (Schakelford et al. 2002). Obwohl die Bewertungen in den meisten Fällen übereinstimmig waren, sind Bewertungsfehler nicht auszuschließen. Vor allem zwischen den Stufen 2 und 3 sind die Unterschiede meist vom subjektiven Empfinden stark abhängig.

Eine weitere mögliche Limitation der vorliegenden Arbeit liegt darin, dass durch die Immunhistochemie lediglich der Nachweis und nicht die Aktivität von MMPs untersucht werden kann. Die Möglichkeit, dass diese in inaktiver Form exprimiert waren, kann im Rahmen dieser Studie nicht ausgeschlossen werden.

Eine mögliche Limitation des durchgeführten Vergleichs zwischen den Ätiologien könnte zudem darin bestehen, dass die infektiöse Endokarditis in den meisten Fällen einen bereits defekten Klappenapparat befällt (Sullam et al. 1985). Eine degenerative Mitralklappenkrankheit, z.B. in Form einer myxoiden Proliferation oder einer Sklerose, könnte dementsprechend die Basis für die Entstehung der infektiösen Endokarditis bei einem Teil der untersuchten Patienten gebildet haben.

5.7. Klinische Aspekte

Ein besseres Verständnis der Physiopathologie der Mitralklappeninsuffizienz ist eine wichtige Voraussetzung für eine bessere Therapie. Physiologisch sorgt die Interaktion zwischen der extrazellulären Matrix und den valvulären interstitiellen und endothelialen Zellen für einen kontinuierlichen Umbauprozess, der zum Erhalt des Klappenapparates führt (Spadaccio et al. 2016). Die Entstehung einer Mitralklappeninsuffizienz durch strukturelle Veränderungen in der Klappe kann auf zwei unterschiedliche Mechanismen zurückgeführt werden. Die Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz ist hierbei entscheidend. Sowohl der mechanische Stress als auch die durch Entzündung stimulierten biochemischen Prozesse können zu einem pathologischen Umbau mit erhöhter Kollagen-Synthese führen. Dieser Umbau ist mit einer erhöhten Expression von MMPs verbunden (Spadaccio et al. 2016).

Die durch Endokarditis verursachte Mitralklappeninsuffizienz weist im Vergleich zur degenerativen Mitralklappenerkrankung eine erhöhte MMP-Expression und somit eine stärkere Klappendestruktion auf. Hierbei spielt die lokale Entzündung durch Migration von Immunzellen eine wichtige Rolle. Die Synthese von MMPs durch Makrophagen in entzündlichen Prozessen sowie im Rahmen des vaskulären Remodelings und bei chronischer venöser Insuffizienz wurde bereits in früheren Studien aufgezeigt (Ryo et al. 2009, MacColl and Khalil 2015). Die strukturellen Veränderungen durch eine zusätzliche entzündliche Komponente sind bei der Endokarditis ausgeprägter im Vergleich zu degenerativen Mitralklappenerkrankungen, auch bei gleichem Mitralinsuffizienzgrad. Dies könnte zur Therapieanpassung eingesetzt werden.

Bei der degenerativen Klappenerkrankung spielt der mechanische Stress eine wichtige Rolle. Er führt zu einer Phänotyp-Änderung der valvulären Zellen (interstitielle und endotheliale Zellen) mit pathologischer Produktion von extrazellulären Komponenten (Spadaccio et al. 2016). Die niedrigere MMP-Expression im Rahmen der degenerativen Mitralklappenerkrankung könnte dadurch erklärt werden, dass der Destruktionsprozess langsamer voranschreitet und die Insuffizienz erst nach mehreren Jahren zum Vorschein kommt.

Ob die Ischämie eine direkte Rolle in der Entstehung einer primären Mitralklappeninsuffizienz spielt, konnte in dieser Studie nicht geklärt werden. Es wurde kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen koronararteriellen Stenosen und der Mitralklappeninsuffizienz bei den untersuchten Patienten gefunden.

Die Mitralklappeninsuffizienz als Konsequenz einer strukturellen Änderung des Klappenapparates ist ein komplexer dynamischer Prozess, in dem verschiedene molekulare Interaktionen stattfinden. Die Interaktionen auf molekularchemischer Ebene scheinen frühzeitig aufzutreten, bevor es zu einer echokardiographisch nachweisbaren pathologischen Veränderung kommt. Ein Beweis hierfür könnte die starke Expression der Matrix-Metalloproteinasen in der noch leichtgradigen Mitralklappeninsuffizienz sein. Eine frühere Erkennung dieser strukturellen Änderungen könnte bei der frühzeitigen Entscheidungsfindung über die Therapienotwendigkeit und die ansetzbaren Therapieoptionen helfen.

In der vorliegenden Studie zeigte sich MMP-9 im Mitralklappengewebe als potentiell geeigneter Marker der Mitralklappeninsuffizienz. Zu ähnlichen Schlussfolgerungen sind weitere kardiovaskuläre Arbeiten gekommen. So konnte gezeigt werden, dass MMP-9 bei ischämischen Herzerkrankungen eine wichtige Rolle spielt. Hamed und Fattah zeigten, dass

MMP-9 im Serum ein Marker für die Differenzierung zwischen Myokardinfarkt und instabiler Angina Pectoris bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ist (Hamed und Fattah 2015). In diesem Zusammenhang könnte der MMP-9-Nachweis im Serum eine Ergänzung zur Echokardiographie in der Diagnose und Schweregrad-Bestimmung der Mitralklappeninsuffizienz sein.

Die Betrachtung der Klappendestruktion als dynamischen Prozess, der in seinem zeitlichen Verlauf durch unterschiedliche Mechanismen gekennzeichnet ist bedeutet im Hinblick auf den Erfolg der ausgewählten Therapiemethode, dass dieser vom Zeitpunkt des Eingriffs abhängig ist. Somit könnten beispielsweise die neu-entwickelten synthetischen MMP-Inhibitoren in den frühen Phasen der Destruktion, wo die MMP-Expression am stärksten ist, eine gute Alternative zur operativen Behandlung sein. Ziel dieser Therapie wäre die Erzielung eines kontinuierlichen physiologischen Umbauprozesses der extrazellulären Matrix. Dies ist unter anderem für den Erhalt der Mitralklappenfunktion von großer Bedeutung. Bis jetzt wurden Zinc-Chelatoren, Doxycycline, Batimastat und Marimastat in der Onkologie bei autoimmunen Erkrankungen und einigen kardiovaskulären Erkrankungen mit einigem Erfolg getestet. Die möglichen Nebenwirkungen (hauptsächlich auf dem muskuloskeletalen System) grenzen aber Ihre Benutzung ein (Kucukguven and Khalil 2013).

Die Entscheidung über den bestmöglichen Operationszeitpunkt und das notwendige operative Verfahren (Mitralklappenrekonstruktion oder Mitralklappenersatz) könnte auch anhand des MMP-Nachweises erleichtert werden. Dieser Parameter führt zusammen mit der Echokardiographie zu einer verbesserten Auswahl des Operationsverfahrens und der zu operierenden Patienten. Beispielsweise könnte eine niedrige MMP-Expression bei einer Mitralklappeninsuffizienz dritten Grades ein Hinweis darauf sein, dass die Destruktion der Klappe fortgeschritten ist und die Erfolgsaussichten einer Rekonstruktion relativ gering sind. Ein Ersatz der Klappe kann in derartigen Fällen bevorzugt werden.

5.8. Ausblick

Die in der vorliegenden Arbeit gezeigte Korrelation zwischen MMP-Expression und Mitralklappeninsuffizienz deutet auf die Rolle der MMPs in der Diagnose und der Schweregradbestimmung hin und eröffnet Perspektiven hinsichtlich weiterer Studienmöglichkeiten.

In der vorliegenden Studie wurde der Nachweis von MMPs und ihren Inhibitoren in der Mitralklappe immunhistochemisch durchgeführt. Eine Untersuchung und Messung der

Aktivität durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) scheint in Zukunft sinnvoll, um die Ergebnisse zu bestätigen.

Weiterhin könnte eine Auswertung der MMP-Expression im Serum und in der Herzklappe in unterschiedlichen Stadien der Klappendestruktion in Zukunft zu einer Verbesserung der Diagnostik führen. Die MMPs, und hauptsächlich MMP9 könnten als Marker der Destruktion in Betracht kommen.

Schließlich könnte die therapeutische Eignung einer Inhibition von MMP in den frühen Phasen der Mitralklappendestruktion erwogen werden.

6. Zusammenfassung

Nach heutigem Wissensstand ist der Pathomechanismus der Entstehung der Mitralklappeninsuffizienz - mit eventueller Ausnahme der Endokarditis - mit mehreren Unklarheiten verbunden. Während sich mehrere Studien mit der Rolle von MMPs für den Mitralklappenprolaps beschäftigt haben, blieb der Ätiologie-unabhängige Zusammenhang zwischen MMPs und Mitralklappeninsuffizienz bisher weniger erforscht.

Die vorliegende Arbeit hatte als primäres Ziel, die Rolle von Matrix-Metalloproteinasen und deren Inhibitoren in der Mitralklappeninsuffizienz zu analysieren. Dafür wurde die Expression von MMP-1, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 immunhistochemisch untersucht und ihre Verteilung in Abhängigkeit von klinischen, echokardiographischen und histopathologischen Befunden beurteilt.

Unter anderem wurde in der vorliegenden Studie ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Expression von MMPs und dem Mitralklappeninsuffizienzgrad gefunden. Es fand sich eine erhöhte Expression von MMPs bei leichtgradiger Mitralklappeninsuffizienz und eine relativ schwache Expression bei schwergradiger Mitralklappeninsuffizienz. Weiterhin wurde die Ätiologie der Mitralklappeninsuffizienz bei der Auswertung berücksichtigt. Dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Expression von Matrix-Metalloproteinasen in Mitralklappen mit Endokarditis im Gegensatz zu Mitralklappen mit degenerativer Erkrankung. Innerhalb der degenerativen Gruppe fand sich kein relevanter Unterschied zwischen den Subgruppen myxoide und sklerosierte Klappe.

Zusammenfassend hat sich in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass der extrazelluläre Umbau und damit die Destruktion der Klappe bei der chronischen Mitralklappeninsuffizienz ein dynamischer Prozess ist. Die stärkere Expression von MMPs und ihren Inhibitoren bei der Insuffizienz ersten Grades ist ein Hinweis darauf, dass die molekularen Veränderungen den makroskopischen und damit den echokardiographisch diagnostizierbaren Veränderungen vorausgehen. Dies eröffnet neue Perspektiven in der Frühdiagnose einer Mitralklappeninsuffizienz und sollte im Rahmen zukünftiger Studien weiter erforscht werden.

7. Summary

According to current knowledge, the pathomechanism of the development of mitral valve insufficiency - with the possible exception of endocarditis - is associated with several ambiguities. While several studies have addressed the role of MMPs in mitral valve prolapse, the aetiology-independent association between MMPs and mitral regurgitation has been less well studied.

The primary objective of this work was to analyze the role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in mitral valve insufficiency. For this purpose, the expression of MMP-1, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 was examined by immunohistochemistry and their distribution was evaluated according to clinical, echocardiographic and histopathological findings.

A clear correlation between the expression of MMPs and the degree of mitral valve insufficiency was found in the present study. There was an increased expression of MMPs in mild mitral regurgitation and a relatively weak expression in severe cases. Furthermore, the aetiology of mitral regurgitation was considered in the evaluation. There was a significant difference in the expression of matrix metalloproteinases in mitral valves with endocarditis as opposed to mitral valves with degenerative disease. Within the degenerative group no relevant difference was found between the subgroups myxoid and sclerosed valve.

In summary, the present study has shown that the extracellular remodeling and thus the destruction of the valve in chronic mitral regurgitation is a dynamic process. The increased expression of MMPs and their inhibitors in first-degree insufficiency is an indication that the molecular changes precede the macroscopic and thus echocardiographically diagnosable changes. This opens new perspectives in the early diagnosis of mitral regurgitation and should be further explored in future studies.

8. Verzeichnisse

8.1. Literaturverzeichnis

Entsprechend der Harvard-Konvention:

Abramowitz Yigal, Jilaihawi Hasan, Chakravarty Tarun, J. Mack Michael, Makkar Raj R. (2015) Mitral Annulus Calcification. In; Journal of the American College of Cardiology Oct 2015, 66 (17) 1934-1941.

Adams DH, Rosenhek R, Falk V (2010) Degenerative mitral valve regurgitation: best practice revolution. In: European Heart Journal 31:1958–1967

Anné, Wim; Willems, Rik; Roskams, Tania; Sergeant, Paul; Herijgers, Paul; Holemans, Patricia et al. (2005): Matrix metalloproteinases and atrial remodeling in patients with mitral valve disease and atrial fibrillation. In: Cardiovascular research 67 (4), S. 655–666.

Anyanwu, Ani C.; Adams, David H. (2007): Etiologic classification of degenerative mitral valve disease: Barlow's disease and fibroelastic deficiency. In: Seminars in thoracic and cardiovascular surgery 19 (2), S. 90–96.

Aronow, W. S.; Kronzon, I. (1987): Correlation of prevalence and severity of mitral regurgitation and mitral stenosis determined by Doppler echocardiography with physical signs of mitral regurgitation and mitral stenosis in 100 patients aged 62 to 100 years with mitral anular calcium. In: The American journal of cardiology 60 (14), S. 1189–1190.

Attenhofer Jost, Christine H; Connolly, Heidi M.; O'Leary, Patrick W.; Warnes, Carole A.; Tajik, A. Jamil; Seward, James B. (2005): Left heart lesions in patients with Ebstein anomaly. In: Mayo Clinic proceedings 80 (3), S. 361–368.

Aumüller G., Aust G., Doll A., Engele J., Kirsch J., Mense S. et al. (2010) Anatomie: Herz und Herzbeutel. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Aupperle H, März I, Thielebein J, Dinges G, Schoon HA.(2010): Histomorphological findings and expression of matrix metalloproteinases and their tissue specific inhibitors (TIMPs) in normal tricuspid valves and in chronic tricuspid valvular disease in dogs. In: The Veterinary Journal Volume 183, Issue 2, February 2010, Pages 176–183.

Barber, J. E.; Kasper, F. K.; Ratliff, N. B.; Cosgrove, D. M.; Griffin, B. P.; Vesely, I. (2001): Mechanical properties of myxomatous mitral valves. In: The Journal of thoracic and cardiovascular surgery 122 (5), S. 955–962.

Barbour, John R.; Spinale, Francis G.; Ikonomidis, John S. (2007): Proteinase systems and thoracic aortic aneurysm progression. In: The Journal of surgical research 139 (2), S. 292–307.

Beaudeau, Jean-Louis; Giral, Philippe; Bruckert, Eric; Foglietti, Marie-José; Chapman, M. John (2004): Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. In: Clinical chemistry and laboratory medicine 42 (2), S. 121–131.

Benoit, Marie; Thuny, Franck; Le Priol, Yannick; Lepidi, Hubert; Bastonero, Sonia; Casalta, Jean-Paul et al. (2010): The Transcriptional Programme of Human Heart Valves Reveals the Natural History of Infective Endocarditis. In: Plos One 5 (1).

Bergler-Klein, Jutta; Gyongyosi, Mariann; Maurer, Gerald (2014): The role of biomarkers in valvular heart disease: focus on natriuretic peptides. In: Canadian Journal of Cardiology 30 (9), S. 1027–1034.

Bernardo M Margarida and Fridman Rafael (2003): TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2) regulates MMP-2 (matrix metalloproteinase-2) activity in the extracellular environment after pro-MMP-2 activation by MT1 (membrane type 1)-MMP. In: Biochemical Journal. 2003 Sep 15; 374(Pt 3): 739–745.

Birkedal-Hansen H (1995): Proteolytic remodeling of extracellular matrix. In: Current Opinion in Cell Biology 7: 728-735.

Boenisch Thomas (2003) Handbuch immunhistochemische Färbemethoden. 3. Auflag. DakoCytomation GmbH Hamburg

Botelho-Nevers E, Thuny F, Casalta JP, Richet H, Gouriet F, Collart F, Riberi A, Habib G, Raoult D(2009) Dramatic reduction in infective endocarditis-related mortality with a management-based approach. In: Arch Intern Med 169:1290–1298.

Bourboulia, Dimitra and Stetler-Stevenson, William G.(2010): Matrix Metalloproteinases (MMPs) and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): positive and negative regulators in tumor cell adhesion. In: Semin Cancer Biol. 2010 Jun; 20(3): 161–168.

Brew K, Nagase H (2010): The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. In: *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jan; 1803(1):55-71.

Carpentier, A. (1983): Cardiac valve surgery--the "French correction". In: *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 86 (3), S. 323–337.

Carpentier, A.; Lessana, A.; Relland, J. Y.M.; Belli, E.; Mihaileanu, S. ; Berrebi, A.; Palsky, E.; Loulmet, Didier F. (1995). The "Physio-Ring": an advanced concept in mitral valve annuloplasty. In: *The Annals of thoracic surgery*. 60. 1177-85; discussion 1185.

Carpentier, A. F.; Pellerin, M.; Fuzellier, J. F.; Relland, J. Y. (1996): Extensive calcification of the mitral valve anulus: pathology and surgical management. In: *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 111 (4), S. 718-29; discussion 729-30.

Carpentier A, Adams DH, Filsoufi F (2010): *Carpentier's reconstructive valve surgery*. Maryland Heights: Saunders-Elsevier; 2010.

Cawston, T. E.; Mercer, E. (1986): Preferential binding of collagenase to alpha 2-macroglobulin in the presence of the tissue inhibitor of metalloproteinases. In: *FEBS letters* 209 (1), S. 9–12.

David TE¹, Armstrong S, Ivanov J (2013). Chordal replacement with polytetrafluoroethylene sutures for mitral valve repair: a 25-year experience. In: *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2013 Jun; 145(6):1563-9

Delahaye F, Celard M, Roth O, de Gevigney G (2004): Indications and optimal timing for surgery in infective endocarditis. In: *Heart* 2004 Jun; 90(6): 618–620

Dreger, Sally A.; Taylor, Patricia M.; Allen, Sean P.; Yacoub, Magdi H. (2002): Profile and localization of matrix metalloproteinases (MMPs) and their tissue inhibitors (TIMPs) in human heart valves. In: *The Journal of heart valve disease* 11 (6), S. 875-80; discussion 880.

Egeblad, Mikala; Werb, Zena (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. In: *Nature reviews. Cancer*. 161-174.

Elkington, P T G; O'Kane, C. M.; Friedland, J. S. (2005): The paradox of matrix metalloproteinases in infectious disease. In: *Clinical and experimental immunology* 142 (1), S. 12–20.

Enriquez-Sarano, Maurice; Akins, Cary W.; Vahanian, Alec (2009): Mitral regurgitation. In: *Lancet* (London, England) 373 (9672), S. 1382–1394.

Fridman, R.; Toth, M.; Pena, D.; Mobashery, S. (1995): Activation of progelatinase B (MMP-9) by gelatinase A (MMP-2). In: *Cancer research* 55 (12), S. 2548–2555.

Fitzsimmons, Patrick J.; Forough, Reza; Lawrence, Mark E.; Gantt, D. Scott; Rajab, M. Hasan; Kim, Hyunsun et al. (2007): Urinary levels of matrix metalloproteinase 9 and 2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery disease. In: *Atherosclerosis* 194 (1), S. 196–203.

Fornes, P.; Heudes, D.; Fuzellier, J. F.; Tixier, D.; Bruneval, P.; Carpentier, A. (1999): Correlation between clinical and histologic patterns of degenerative mitral valve insufficiency: a histomorphometric study of 130 excised segments. In: *Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 8 (2), S. 81–92.

Fulkerson, P. K.; Beaver, B. M.; Auseon, J. C.; Graber, H. L. (1979): Calcification of the mitral annulus: etiology, clinical associations, complications and therapy. In: *The American journal of medicine* 66 (6), S. 967–977.

Garbi M, Monaghan MJ (2015): Quantitative mitral valve anatomy and pathology. In: *Echo Research and Practice* 1;2(3):R63-72. Gialeli, Chrisostomi; Theocharis, Achilleas D.; Karamanos, Nikos K. (2011): Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. In: *The FEBS journal* 278 (1), S. 16–27.

Grande-Allen, K. Jane; Griffin, Brian P.; Ratliff, Norman B.; Cosgrove, Delos M.; Vesely, Ivan (2003): Glycosaminoglycan profiles of myxomatous mitral leaflets and chordae parallel the severity of mechanical alterations. In: *Journal of the American College of Cardiology* 42 (2), S. 271–277.

Grau, J. B.; Pirelli, L.; Yu, P-J; Galloway, A. C.; Ostrer, H. (2007): The genetics of mitral valve prolapse. In: *Clinical genetics* 72 (4), S. 288–295.

Greten H., Rinninger F. und Greten T. (2010): *Innere Medizin: 7.2 Infektiöse Endokarditis*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Gu, Zezong; Kaul, Marcus; Yan, Boxu; Kridel, Steven J.; Cui, Jiankun; Strongin, Alex et al. (2002): S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. In: *Science* (New York, N.Y.) 297 (5584), S. 1186–1190.

Guo, C., Zhang, S., Zhang, J., Liu, H., Li, P., Liu, H., & Wang, Y. (2014). Correlation between the severity of coronary artery lesions and levels of estrogen, hs-CRP and MMP-9. In: *Experimental and Therapeutic Medicine*, 7(5), 1177–1180.

Habib, Gilbert; Lancellotti, Patrizio; Antunes, Manuel J.; Bongiorni, Maria Grazia; Casalta, Jean-Paul; Del Zotti, Francesco et al. (2015): 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). In: *European Heart Journal* 36 (44), S. 3075–3128.

Hagler, Michael A.; Hadley, Thomas M.; Zhang, Heyu; Mehra, Kashish; Roos, Carolyn M.; Schaff, Hartzell V. et al. (2013): TGF- β signalling and reactive oxygen species drive fibrosis and matrix remodelling in myxomatous mitral valves. In: *Cardiovascular research* 99 (1), S. 175–184.

Hamed GM, Fattah MF (2015): Clinical Relevance of matrix metalloproteinase 9 in patients with acute coronary syndrome. In: *Clin Appl Thromb Hemost*; 21(8):705-11.

Hamm, Christian W.; Albrecht, Alexander; Bonzel, Tassilo; Kelm, Malte; Lange, Helmut; Schachinger, Volker et al. (2008): Diagnostic heart catheterization. In: *Clinical research in cardiology: official journal of the German Cardiac Society* 97 (8), S. 475–512.

Herold, Gerd (2016): *Innere Medizin.. Aufl.* Köln: Herold.

Heymans S, Schroen B, Vermeersch P, Milting H, Gao F, Kassner A, Gillijns H, Herijgers P, Flameng W, Carmeliet P, Van de Werf F, Pinto YM, Janssens S. (2005): Increased cardiac expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 is related to cardiac fibrosis and dysfunction in the chronic pressure-overloaded human heart. In: *Circulation*. 2005 Aug 23;112(8):1136-44.

Hidalgo Manuel, Eckhardt S. Gail (2001) Development of Matrix Metalloproteinase Inhibitors in Cancer Therapy,. In: *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, Volume 93, Issue 3, 7 February 2001, Pages 178–193,

Hirner, Andreas; Weise, Kuno (2008): *Chirurgie. 2., überarb. Aufl.* Stuttgart, New York: Thieme.

Hoffmann, Grischa; Lutter, Georg; Cremer, Jochen (2008): Durability of Bioprosthetic Cardiac Valves. In: *Deutsches Ärzteblatt international* 105 (8), S. 143–148.

Hu Jialiang, Van den Steen Philippe E., Sang Qing-Xiang A. Opdenakker Ghislain (2007) Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. In: Nature Reviews Drug Discovery volume 6, pages 480–498

Hu, Xiang; Wang, Hao-Zhe; Liu, Jun; Chen, An-Qin; Ye, Xiao-Feng; Zhao, Qiang (2014): A Novel Role of Sympathetic Activity in Regulating Mitral Valve Prolapse. In: Circ J 78 (6), S. 1486–1493.

Kadoglou, Nikolaos P.; Daskalopoulou, Stella S.; Perrea, Despina; Liapis, Christos D. (2005): Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications. In: Angiology 56 (2), S. 173–189.

Kandalam, Vijay; Basu, Ratnadeep; Moore, Linn; Fan, Dong; Wang, Xiuhua; Jaworski, Diane M. et al. (2011): Lack of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 leads to exacerbated left ventricular dysfunction and adverse extracellular matrix remodeling in response to biomechanical stress. In: Circulation 124 (19), S. 2094–2105.

Kelly, Dominic; Cockerill, Gillian; Ng, Leong L.; Thompson, Matt; Khan, Sohail; Samani, Nilesh J.; Squire, Iain B. (2007): Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. In: European Heart Journal 28 (6), S. 711–718.

Kelly, Dominic; Khan, Sohail Q.; Thompson, Matt; Cockerill, Gillian; Ng, Leong L.; Samani, Nilesh; Squire, Iain B. (2008): Plasma tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9: novel indicators of left ventricular remodelling and prognosis after acute myocardial infarction. In: European Heart Journal 29 (17), S. 2116–2124.

Kessenbrock, Kai; Plaks, Vicki; Werb, Zena (2010): Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. In: Cell 141 (1), S. 52–67.

Klaar, Ursula; Gabriel, Harald; Bergler-Klein, Jutta; Pernicka, Elisabeth; Heger, Maria; Mascherbauer, Julia et al. (2011): Prognostic value of serial B-type natriuretic peptide measurement in asymptomatic organic mitral regurgitation. In: European journal of heart failure 13 (2), S. 163–169

Klein, A. L.; Burstow, D. J.; Tajik, A. J.; Zachariah, P. K.; Taliercio, C. P.; Taylor, C. L. et al. (1990): Age-related prevalence of valvular regurgitation in normal subjects: a comprehensive color flow examination of 118 volunteers. In: Journal of the American Society of Echocardiography: official publication of the American Society of Echocardiography 3 (1), S. 54–63.

Kucukguven Arda and Khalil Raouf A.(2013):Matrix Metalloproteinases as Potential Targets in the Venous Dilation Associated with Varicose Veins. In: *Curr Drug Targets*. 2013 Mar 1; 14(3): 287–324.

Kwan, Jennifer A.; Schulze, Costas J.; Wang, Wenjie; Leon, Hernando; Sariahmetoglu, Meltem; Sung, Miranda et al. (2004): Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is present in the nucleus of cardiac myocytes and is capable of cleaving poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) in vitro. In: *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18 (6), S. 690–692.

Lambert, Elise; Dassé, Emilie; Haye, Bernard; Petitfrère, Emmanuelle (2004): TIMPs as multifacial proteins. In: *Critical reviews in oncology/hematology* 49 (3), S. 187–198.

Lancellotti, Patrizio; Moura, Luis; Pierard, Luc A.; Agricola, Eustachio; Popescu, Bogdan A.; Tribouilloy, Christophe et al. (2010): European Association of Echocardiography recommendations for the assessment of valvular regurgitation. Part 2: mitral and tricuspid regurgitation (native valve disease). In: *European journal of echocardiography : the journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology* 11 (4), S. 307–332.

Lancellotti, Patrizio; Tribouilloy, Christophe; Hagendorff, Andreas; Popescu, Bogdan A.; Edvardsen, Thor; Pierard, Luc A. et al. (2013): Recommendations for the echocardiographic assessment of native valvular regurgitation: an executive summary from the European Association of Cardiovascular Imaging. In: *European heart journal cardiovascular Imaging* 14 (7), S. 611–644.

Lang, Roberto M.; Badano, Luigi P.; Tsang, Wendy; Adams, David H.; Agricola, Eustachio; Buck, Thomas et al. (2012): EAE/ASE recommendations for image acquisition and display using three-dimensional echocardiography. In: *European heart journal cardiovascular Imaging* 13 (1), S. 1–46.

Levine RA, Hagège AA, Judge DP, Padala M, Dal-Bianco JP, Aikawa E, Beaudoin J, Bischoff J, Bouatia-Naji N, Bruneval P, Butcher JT, Carpentier A, Chaput M, Chester AH, Clusel C, Delling FN, Dietz HC, Dina C, Durst R, Fernandez-Friera L, Handschumacher MD, Jensen MO, Jeunemaitre XP, Le Marec H, Le Tourneau T, Markwald RR, Mérot J, Messas E, Milan DP, Neri T, Norris RA, Peal D, Perrocheau M, Probst V, Pucéat M, Rosenthal N, Solis J, Schott JJ, Schwammenthal E, Slaugenhaupt SA, Song JK, Yacoub MH(2015): Mitral valve disease--morphology and mechanisms. In: *Nat Rev Cardiol*. 2015 Dec;12(12):689-

710.Lijnen, H. R. (2001): Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. In: *Thrombosis and haemostasis* 86 (1), S. 324–333.

Limb, G. Astrid; Matter, Karl; Murphy, Gillian; Cambrey, Alison D.; Bishop, Paul N.; Morris, Glenn E.; Khaw, Peng T. (2005): Matrix metalloproteinase-1 associates with intracellular organelles and confers resistance to lamin A/C degradation during apoptosis. In: *The American Journal of Pathology* 166 (5), S. 1555–1563.

Lin, S. S.; Lauer, M. S.; Asher, C. R.; Cosgrove, D. M.; Blackstone, E.; Thomas, J. D.; Garcia, M. J. (2001): Prediction of coronary artery disease in patients undergoing operations for mitral valve degeneration. In: *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 121 (5), S. 894–901

Lin, Tsung-Hsien; Yang, Sheau-Fang; Chiu, Chaw-Chi; Lee, Ya-Ting; Su, Ho-Ming; Voon, Wen-Chol et al. (2009): Synergistic effect of mitral expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 with hypertension on the occurrence of mitral chordae tendinae rupture. In: *Journal of hypertension* 27 (10), S. 2079–2085.

Lin, Tsung-Hsien; Yang, Sheau-Fang; Chiu, Chaw-Chi; Su, Ho-Ming; Wang, Chiao-Ling; Voon, Wen-Chol et al. (2013): Matrix metalloproteinase-1 mitral expression and -1607 1G/2G gene promoter polymorphism in mitral chordae tendinae rupture. In: *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine* 161 (5), S. 406–413.

Lin, Tsung-Hsien; Yang, Sheau-Fang; Chiu, Chaw-Chi; Su, Ho-Ming; Voon, Wen-Chol; Chai, Chee-Yin et al. (2014): Mitral tissue inhibitor of metalloproteinase 2 is associated with mitral valve surgery outcome. In: *Plos One* 9 (1), S. e86287.

Lindsey, Merry L.; Zamilpa, Rogelio (2012): Temporal and spatial expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases following myocardial infarction. In: *Cardiovascular therapeutics* 30 (1), S. 31–41.

Ljungvall, Ingrid; Rajamäki, Minna M.; Crosara, Serena; Olsen, Lisbeth H.; Kwart, Clarence; Borgarelli, Michele et al. (2011): Evaluation of plasma activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 in dogs with myxomatous mitral valve disease. In: *American journal of veterinary research* 72 (8), S. 1022–1028.

Lüllmann-Rauch, Renate (2012): *Histologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Lynch, Patrick J.; illustrator; Jaffe, C. Carl; MD; cardiologist Yale University Center for Advanced Instructional Media Medical Illustrations by Patrick Lynch, generated for multimedia teaching projects by the Yale University School of Medicine, Center for Advanced

Instructional Media, 1987-2000. Patrick J. Lynch, <http://patricklynch.net> Creative Commons Attribution 2.5 License 2006; <http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/>

MacColl E, Khalil RA (2015): Matrix Metalloproteinases as Regulators of Vein Structure and Function: Implications in Chronic Venous Disease. In: *J Pharmacol Exp Ther.* 2015 Dec;355(3):410-28

Mahimkar, Rajeev; Nguyen, Anita; Mann, Michael; Yeh, Che-Chung; Zhu, Bo-Qing; Karliner, Joel S.; Lovett, David H. (2009): Cardiac transgenic matrix metalloproteinase-2 expression induces myxomatous valve degeneration: a potential model of mitral valve prolapse disease. In: *Cardiovascular pathology: the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 18 (5), S. 253–261.

Matrisian LM (1990): Metalloproteinases and their inhibitors in tissue remodeling. In: *Trends Genet* 6: 121-125.

McCawley, Lisa J.; Matrisian, Lynn M. (2001): Matrix metalloproteinases. They're not just for matrix anymore! In: *Current Opinion in Cell Biology* 13 (5), S. 534–540.

Mills, William R.; Barber, J. Edward; Ratliff, Norman B.; Cosgrove, Delos M 3rd; Vesely, Ivan; Griffin, Brian P. (2004): Biomechanical and echocardiographic characterization of flail mitral leaflet due to myxomatous disease: further evidence for early surgical intervention. In: *American heart journal* 148 (1), S. 144–150.

Morishita, T., Uzui, H., Mitsuke, Y., Amaya, N., Kaseno, K., Ishida, K., Fukuoka, Y., Ikeda, H., Tama, N., Yamazaki, T., Lee, J.-D., and Tada, H. (2017) Association between matrix metalloproteinase-9 and worsening heart failure events in patients with chronic heart failure. In: *ESC Heart Failure*, 4: 321–330..

Naber, C. K. (2004): S2 Guideline for diagnosis and therapy of infectious endocarditis. In: *Zeitschrift für Kardiologie* 93 (12), S. 1005–1021.

Nestico P.F., Depace N.L., Morganroth J., et al. (1984) Mitral annular calcification: clinical, pathophysiology, and echocardiographic review. In: *Am Heart J* 107:989–996

Nickenig G., Mohr F.W., Kelm M. et al. (2013) Konsensus der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung und der Deutschen Gesellschaft für Thorax-Herz- und Gefäßchirurgie zur Behandlung der Mitralklappeninsuffizienz. In: *Kardiologie* 7:76–90

Nishimura, Rick A.; Otto, Catherine M.; Bonow, Robert O.; Carabello, Blase A.; Erwin, John P. 3rd; Guyton, Robert A. et al. (2014): 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. In: *Journal of the American College of Cardiology* 63 (22), S. e57-185.

Obuchowski, Nancy A. (2004): How many observers are needed in clinical studies of medical imaging? In: *AJR. American journal of roentgenology* 182 (4), S. 867–869.

Olson, L. J.; Subramanian, R.; Ackermann, D. M.; Orszulak, T. A.; Edwards, W. D. (1987): Surgical pathology of the mitral valve: a study of 712 cases spanning 21 years. In: *Mayo Clinic proceedings* 62 (1), S. 22–34.

Onal, Ibrahim Koral; Altun, Bulent; Onal, Eda Demir; Kirkpantur, Alper; Gul Oz, Serife; Turgan, Cetin (2009): Serum levels of MMP-9 and TIMP-1 in primary hypertension and effect of antihypertensive treatment. In: *European journal of internal medicine* 20 (4), S. 369–372.

Roberts W.C. (1986) The senile cardiac calcification syndrome. In: *Am J Cardiol* 58:572–574

Rodriguez, David; Morrison, Charlotte J.; Overall, Christopher M. (2010): Matrix metalloproteinases: what do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. In: *Biochimica et biophysica acta* 1803 (1), S. 39–54.

Rudolph, Volker; Huntgeburth, Michael; von Bardeleben, Ralph Stephan; Boekstegers, Peter; Lubos, Edith; Schillinger, Wolfgang et al. (2014): Clinical outcome of critically ill, not fully recompensated, patients undergoing MitraClip therapy. In: *European journal of heart failure* 16 (11), S. 1223–1229.

Ryo Ota, Kurihara C, Tsou TL, Young WL, Yeghiazarians Y, Chang M, Mobashery S, Sakamoto A, Hashimoto T(2009): Roles of matrix metalloproteinases in flow-induced outward vascular remodeling. In: *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009 Sep;29(9):1547-58.

Schoen, Frederick J. (2008): Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering. In: *Circulation* 118 (18), S. 1864–1880.

Shackelford, Cynthia; Long, Gerald; Wolf, Jeffrey; Okerberg, Carlin; Herbert, Ronald (2002): Qualitative and quantitative analysis of nonneoplastic lesions in toxicology studies. In: *Toxicologic pathology* 30 (1), S. 93–96.

Shibata T (2014): Loop technique for mitral valve repair. In: *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2014 Feb;62(2):71-7.

Silbiger JJ. (2013): Novel pathogenetic mechanisms and structural adaptations in ischemic mitral regurgitation. In: *J Am Soc Echocardiogr.* 2013 Oct;26(10):1107-1117.

Simionescu, A.; Simionescu, D.; Deac, R. (1996): Biochemical pathways of tissue degeneration in bioprosthetic cardiac valves,: The role of matrix metalloproteinases. In: *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs : 1992)* 42 (5), S. M561-7.

Soini Y, Satta J, Määttä M, Autio-Harjainen H. (2001). Expression of MMP2, MMP9, MT1-MMP, TIMP1, and TIMP2 mRNA in valvular lesions of the heart. In: *J Pathol.* 2001 Jun;194(2):225-31.

Spadaccio C, Mozetic P, Nappi F, Nenna A, Sutherland F, Trombetta M, Chello M, Rainer A (2016): Cells and extracellular matrix interplay in cardiac valve disease: because age matters. In: *Basic Res Cardiol.* 2016 Mar;111(2):16

Spinale, F. G., & Villarreal, F. (2014). Targeting Matrix Metalloproteinases in Heart Disease: Lessons from Endogenous Inhibitors. In: *Biochemical Pharmacology*, 90(1), 7–15.

Stamenkovic, Ivan (2003): Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. In: *The Journal of pathology* 200 (4), S. 448–464.

Sullam, P. M.; Drake, T. A.; Sande, M. A. (1985): Pathogenesis of endocarditis. In: *The American journal of medicine* 78 (6B), S. 110–115.

Sutton, Timothy M.; Stewart, Ralph A H; Gerber, Ivor L.; West, Teena M.; Richards, A. Mark; Yandle, Timothy G.; Kerr, Andrew J. (2003): Plasma natriuretic peptide levels increase with symptoms and severity of mitral regurgitation. In: *Journal of the American College of Cardiology* 41 (12), S. 2280–2287.

Deller, Thomas; Kummer, Wolfgang; Welsch, Ulrich (2014): *Lehrbuch Histologie*. 4. Aufl. München: Elsevier, Urban et Fischer.

Visse, Robert; Nagase, Hideaki (2003): Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. In: *Circulation research* 92 (8), S. 827–839.

Vahanian, Alec; Alfieri, Ottavio; Andreotti, Felicita; Antunes, Manuel J.; Barón-Esquivias, Gonzalo; Baumgartner, Helmut et al. (2012): Guidelines on the management of valvular

heart disease (version 2012): the Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). In: European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery 42 (4), S. S1-44.

Wang, Z.; Juttermann, R.; Soloway, P. D. (2000): TIMP-2 is required for efficient activation of proMMP-2 in vivo. In: The Journal of biological chemistry 275 (34), S. 26411–26415.

Yabluchanskiy A1, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML (2013). Matrix Metalloproteinase-9: Many Shades of Function in Cardiovascular Disease. In: Physiology, 28(6), 391–403.

Zeng, Xin; Tan, Timothy C.; Dudzinski, David M.; Hung, Judy (2014): Echocardiography of the mitral valve. In: Prog Cardiovasc Dis 57 (1), S. 55–73.

Ziemer, Gerhard; Haverich, A. (2010): Herzchirurgie. Die Eingriffe am Herzen und den herznahen Gefäßen. 3., völlig neu bearbeitete Aufl. Berlin, New York: Springer Medizin.

8.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie Der Mitralklappe (modifiziert aus Lynch et al. 2006).....	10
Abbildung 2: schematische Darstellung des Mitralklappenapparats (P1-P3: hintere Segel, A1-A3: vordere Segel) (modifiziert aus R. Koene 2012).....	11
Abbildung 3: Schnitt durch die Mitralklappe eines Schweins. Goldner Färbung (Lüllmann-Rauch 2012).....	12
Abbildung 4: Mitralklappeninsuffizienzdiagnose mittels Farbdopplerechokardiographie: ein breiter, exzentrischer Jet spricht für eine schwergradige Mitralklappeninsuffizienz (Lancellotti et al. 2013)	18
Abbildung 5: Übersichtsfärbung mit Hämatoxylin-Eosin (rechts: myxoide Mitralklappe, links: Endokarditis)	32
Abbildung 6: Positive Kontrollen (oben rechts: MMP-1, Niere; oben links: MMP-9, Plazenta; unten rechts: TIMP-1, Prostata; unten links: TIMP-2, Plazenta).....	34
Abbildung 7: Ein Beispiel für die Bewertung anhand der gefärbten Zellen: MMP-9 (oben links. Grad 0, oben rechts: Grad 1; unten links: Grad 2; unten rechts: Grad 3)	35
Abbildung 8: Verteilung der Patienten anhand der Anzahl der Nebendiagnosen (arterielle Hypertonie, kHK, Vorhofflimmern, chronische Niereninsuffizienz, Diabetes Typ II)	37
Abbildung 9: Verteilung der Patienten anhand des Mitralklappeninsuffizienzgrades.....	39
Abbildung 10: Aufteilung der untersuchten Klappen nach Ätiologie	40
Abbildung 11: Immunhistochemische Bewertung von MMP-1 (1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen).....	43
Abbildung 12: Verteilung der MMP-1 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung.....	44
Abbildung 13: Immunhistochemische Bewertung von MMP-9 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)	45
Abbildung 14: Verteilung der Expression von MMP-9 in der immunhistochemischen Untersuchung.....	46
Abbildung 15: Immunhistochemische Bewertung von TIMP-1 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen)	47
Abbildung 16: Verteilung der TIMP-1 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung.....	48

Abbildung 17: Immunhistochemische Bewertung von TIMP-2 (0 = negativ/ keinerlei Färbung erkennbar, 1 = positiv nur bei sehr wenigen Zellen, 2 = positiv bei einem mäßigen Teil der Zellen, 3 = stark positiv bei einem größeren Teil der Zellen) 49

Abbildung 18: Verteilung der TIMP-2 Expression in der immunhistochemischen Untersuchung..... 50

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ursachen und Mechanismen der Mitralklappeninsuffizienz gemäß der Carpentier-Klassifikation (Carpentier et al. 1995)	14
Tabelle 2: Echokardiographische Beurteilung des Schweregrades der Mitralklappeninsuffizienz (Lancellotti et al. 2013).....	19
Tabelle 3: Häufigkeit der 3 wichtigsten Nebendiagnosen	38
Tabelle 4: Chirurgische Therapieform im Verhältnis zum pathologischen Befund (Anzahl Patienten).....	40
Tabelle 5: Postoperativer Verlauf und Komplikationen	41
Tabelle 6: Verteilung der MMP-1 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie.....	55
Tabelle 7: Verteilung der MMP-9 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie.....	56
Tabelle 8: Verteilung der TIMP-1 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie.....	57
Tabelle 9: Verteilung der TIMP-2 Scores in Abhängigkeit von der Ätiologie.....	58
Tabelle 10: Verteilung der Matrix-Metalloproteinasen und ihre Inhibitoren in Abhängigkeit von arterieller Hypertonie, Vorhofflimmern und KHK	60

8.4 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
%	Prozent (lat.-ital. von Hundert, Hundertstel)
Abb.	Abbildung
BNP	Brain natriuretic peptid (English)
ca.	circa (lateinisch)
Dr.	Doktor
Ect.	et cetera (lateinisch)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Ejektionsfraktion
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	und andere (lateinisch: et alii)
Fa.	Firma
KHK	Koronare Herzkrankheit
LV-Funktion	Linksventrikuläre Funktion
MI	Mitralklappeninsuffizienz
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
m/s	Meter pro Sekunde
MMP	Matrixmetalloprotease
Myx.	myxoide
o.g.	oben genannte
P	Irrtumwahrscheinlichkeit
Prof.	Professor
Skler.	sklerosiert
Tab.	Tabelle

TEE	Transösophageale Echokardiographie
TIMP	Tissue Inhibitor of Matrixmetalloprotease (English)
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach

9. Anhang

9.1 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren in Marburg:

Becker, Donner-Banzhoff , Engenhardt, Fritz , Geraedts , Grosse , Kruse , Lohoff, Luster, Mahnken , Moll ,Neubauer, Peterlein, Plant , Reese, Renz, Richter, Roelcke, Schneider, Stuck, Timmesfeld, Vogelmeier, Wulf.

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren in Tunesien:

Abbes, Baatout, Bach Hamba, Bel Hadj Hmida Belkahia, Ben Hassine, Ben Maiz, Ben Rahal, Boujnah Bousnina, Daghfous, Chabouni, Drissa, Douki, Dziri, Essadam, Fattoum, Gueddiche, Gharbi, Hamza, Houissa, Jmal, Kasem, Khayati, Meherzi, Mokaddem, Nagati, Noura, Nouisri, Rebai, Rezig, Slimane, Zaouch, Zouari

9.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Nikolas Mirow für die Bereitstellung des interessanten und herausfordernden Dissertationsthemas. Ich bin dankbar für die zahlreichen Ratschläge und konstruktiven Diskussionen, die mir bei der Erstellung dieses Manuskriptes geholfen haben.

Ich möchte mich außerdem bei Prof. Dr. Sebastian Vogt und Dr. Med. Marc Irsusi für ihre tatkräftige Unterstützung und wertvollen Ratschläge bedanken, die meine Arbeit inhaltlich sehr bereichert haben.

Ich bedanke mich bei der/dem Zweitgutachter/in für die Bewertung dieser Arbeit.

Ich bedanke mich bei dem gesamten Institut für Pathologie für die Bereitstellung des Mitralklappengewebes und für die freundliche und hilfsbereite Atmosphäre. Besonders möchte ich Herrn Peter Rexin für die Mitbeurteilung der immunhistochemischen Befunde sowie für seine Unterstützung bei pathologischen Fragestellungen.

Ein weiteres Dankeschön widme ich Frau Viktoria Wischmann für ihre freundliche Unterstützung bei der technischen Ausführung der Gewebe-Untersuchungen.

Herrn Stephan Thommes möchte ich für die Unterstützung bei der Findung und Verwaltung der nötigen Patientendaten danken.

Abschließend möchte ich mich noch sehr bei meiner Familie und besonders bei meinem Mann bedanken, der mich während meines Studiums und dieser Arbeit sehr unterstützt hat.