

25.2.7 Disseminierte intravasale Gerinnung (DIC)

Definition

Die DIC ist eine erworbene Gerinnungsstörung, die durch eine intravasale, disseminierte Mikrothrombosierung und eine Blutungsneigung (hämorrhagische Diathese) charakterisiert ist.

Verschiedene Grunderkrankungen können eine **intravasale Aktivierung des Gerinnungssystems** mit Bildung von disseminierten Mikrothromben in der Endstrombahn des Blutsystems bewirken (Verbrauchskoagulopathie, disseminierte intravasale Gerinnung). In der Gefäßendstrombahn wird durch Schädigung der Endothelzellen die Gerinnungskaskade ausgelöst und die Blutzirkulation gestört, was zu Organschädigungen (insbesondere Nieren, Lungen und Gehirn) führen kann. Folge ist zumeist ein Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten (hämorrhagische Diathese).

Merke

Häufige Ursachen der DIC sind: Sepsis, fortgeschrittene Malignome, Schwangerschaftskomplikationen, schwere Lebersynthesstörungen, toxische Schädigung der Gefäßintima, Fehltransfusionen (schwergradige Ag-Ak-Reaktionen).

Ursächlich für eine DIC können unterschiedliche Ereignisse sein, z. B. Operationen an thrombokinasereichen Organen (Lunge, Plazenta usw.), Traumen, Verbrennungen, bakterielle (ggf. auch virale) Infektionen, kardiogener und septischer Schock (gestörte Mikrozirkulation), Aneurysmen, Frakturen, hämatologische und onkologische Erkrankungen oder Schlangenbisse. Das **HELLP-Syndrom** (S.409) kann bei Schwangeren um den Geburtszeitraum als schwere DIC auftreten. Ursächlich können plazentäre Proteine sein, die in den Kreislauf der Frau gelangen. Eine kausale Therapie besteht in der Beendigung der Gravidität durch Kaiserschnitt. Auch die **akute Promyelozytenleukämie** ist oft von einer DIC begleitet, da zirkulierende Promyelozyten Tissue Factor (S.446) und andere prokoagulatorische Proteine enthalten.

Eine DIC kann akut oder chronisch, begrenzt oder diffus sein. Das akute Primäreignis führt anfangs zu einer **Hyperkoagulabilität** und im Weiteren zum **Verbrauch von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten**. Klinisches Zeichen sind **Blutungen**. Diese sind zumeist diffus bei chirurgischen Verletzungen oder betreffen den Urogenitaltrakt, den Gastrointestinaltrakt, die Atemorgane, das ZNS oder die Haut.

► **Diagnose.** Sie ergibt sich aus der Vorerkrankung und einem unerwarteten Auftreten von Blutungen und/oder Veränderungen von Routineparametern der Blutgerinnung:

- Verlängerung von aPTT, Prothrombinzeit (Abfall des Qick-Wertes) und/oder Thrombinzeit
- Abfall der Fibrinogenkonzentration
- Verbrauch von Antithrombin
- Vermehrung von Fibrinogen- und Fibrinspaltprodukten, z. B. D-Dimere (aufgrund einer sekundären Fibrinolyse verbunden mit der DIC)
- Abfall der Thrombozytenzahl
- u. U. Vorkommen von Fragmentozyten (aufgrund einer mikrovaskulären Hämolyse).

► **DIC-Score.** Siehe ► Tab. 25.4. Ein DIC-Score ≥ 5 Punkte macht eine DIC sehr wahrscheinlich.

Tab. 25.4 DIC-Score

Parameter	Wert	Bewertung
Thrombozyten	< 100 G/l	1 Punkt
	< 50 G/l	2 Punkte
D-Dimere	0,5–1,0 mg/l	1 Punkt
	> 1 mg/l	2 Punkte
INR	1,3–1,6	1 Punkt
	> 1,6	2 Punkte
Fibrinogen	< 1,0 g/l	1 Punkt

Merke

Wichtiger als die Absolutwerte der angeführten Laborparameter ist der zeitliche Trend der Veränderungen.

Eine schwere DIC kann zu generalisierter Hypoxie und Multiorganversagen führen. Ist die Gerinnungsaktivierung chronisch, können die Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten ausreichend nachsynthetisiert werden und die Hyperkoagulabilität hält an. Klinische Folgen sind in diesem Fall **Thrombosen** und nicht Blutungen. Hin und wieder manifestiert sich eine DIC fast ohne Veränderungen der oben genannten Laborparameter und ohne Hinweise auf Blutungen oder Thrombose.

Gleichzeitig mit der intravasalen Thrombosierung kommt es zu einer verstärkten Fibrinolyse, da Plasminogen zu Plasmin aktiviert wird. Folge ist eine Zunahme von Fibrinspaltprodukten (messbar als Anstieg der D-Dimere). Patienten mit tumorbedingter chronischer DIC und Thromboembolie (z. B. bei Adenokarzinomen) können sogar erhöhte Thrombozytenzahlen zeigen. Der Nachweis von Fibrin-Fibrinogen-Spaltprodukten (S.461) beweist die reaktive Hyperfibrinolyse.

Der **Schweregrad** der DIC zeigt sich am Ausmaß des Absinkens (Verbrauch) von Fibrinogen, Antithrombin und der Thrombozytenzahl. Bei einer fraglichen und bei manifester DIC müssen aPTT, Prothrombinzeit, Fibrinogen und Thrombozytenzahl engmaschig (maximal 6 h Abstand) kontrolliert werden.

Wichtigste **therapeutische Maßnahme** ist die Behandlung der Grunderkrankung. Bei ernsthaften Blutungen werden Thrombozyten substituiert und FFP (fresh frozen plasma) gegeben. Heparin hat vor allem eine prophylaktische Wirkung in der prä-DIC-Phase (Risikoerkrankung ohne Laborwertveränderungen).

25.3 Diagnostik der plasmatischen Gerinnungsinhibitoren

Worum es geht

Zahlreiche Inhibitoren können aktivierte Gerinnungsfaktoren und sonstige an der Hämostase beteiligte Enzyme hemmen und sind so an der Regulation der Hämostase beteiligt. Mithilfe verschiedener Verfahren kann untersucht werden, ob ein Mangel an Antithrombin, Protein C oder Protein S vorliegt.

Zu den Gerinnungsinhibitoren gehören:

- Antithrombin: Hemmt die Faktoren IIa, IXa, Xa, XIa und XIIa.
- Protein C und S: Hemmen die Faktoren Va und VIIIa.
- C 1-Inhibitor: Hemmt die Faktoren XIa, XIIa und Kallikrein.

- α_2 -Makroglobulin: Hemmt den Faktor IIa sowie Kallikrein und Plasmin.
- Heparinkofaktor II: Hemmt selektiv den Faktor IIa.
- Tissue Factor Pathway Inhibitor: Hemmt Komplexe aus Tissue Factor (Thromboplastin) und den Gerinnungsfaktoren Xa (TF/Xa) bzw. VIIa (TF/VIIa).
- α_1 -Antitrypsin: Hemmt den Faktor IIa und Plasmin.

Wir beschränken uns hier auf die Besprechung von **Antithrombin** (früher als AT III bezeichnet), **Protein C** und **Protein S**. Diese Inhibitoren können als Proteinmenge (antigen-based) oder mithilfe funktioneller Tests untersucht werden. Die funktionellen Tests zeigen einen Inhibitormangel sensitiver an.

25.3.1 Antithrombin

Antithrombin greift als Inhibitor an verschiedenen Stellen in den Gerinnungsablauf ein (► Abb. 25.14). Die **Inaktivierung von Thrombin** und **Faktor Xa** geschieht durch eine Komplexbildung dieser Faktoren mit Antithrombin. Heparin beschleunigt diesen Vorgang massiv. Entsprechend kann Heparin andererseits seine gerinnungshemmende Wirkung nur entfalten, wenn ausreichende Mengen Antithrombin im Blut des Patienten vorhanden sind.

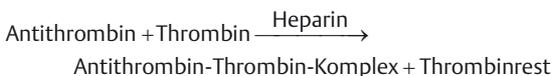
► **Indikation.** Die Bestimmung des Antithrombin ist erforderlich im Rahmen der **Thrombophiliediagnostik** (s. u.), bei **angeborenem Antithrombinmangel** und bei **erworbenem Antithrombinmangel**, z. B. bei disseminierter intravasaler Gerinnung, nach großen operativen Eingriffen, bei Sepsis, schweren Nierenerkrankungen, Lebererkrankungen und möglicherweise unter Östrogen-therapie.

► **Messmethode.** Man unterscheidet 2 Verfahren: das über Thrombin und das über Faktor Xa.

Beim **Verfahren über Thrombin** wird Citratplasma mit einem Thrombinüberschuss und Heparin inkubiert. Antithrombin aus der Probe hemmt einen Teil des vorgelegten Thrombins.

Das restliche Thrombin setzt ein synthetisches Substrat um. Der freigesetzte Farbstoff absorbiert bei 405 nm. Die Steigung der Absorptionskurve korreliert mit dem Antithrombin-Gehalt der Probe und wird anhand einer Bezugskurve (Kalibrationskurve), die mit Normalplasmaverdünnungen erstellt wird, ausgewertet.

Beim Verfahren über Thrombin wird immer auch die Aktivität des Heparin-Cofaktors II miterfasst.



Achtung



Das Antikoagulans **Hirudin**, das beim Vorliegen von Heparin-Antikörpern (HIT) eingesetzt wird, stört diese Antithrombinbestimmung, da es wie Antithrombin die Thrombinaktivität hemmt. Es kommt zu falsch niedrigen Messresultaten.

Das alternative **Verfahren über Faktor Xa** ist weniger störanfällig. Hier wird Thrombin durch Faktor Xa ersetzt. Auch hier wird ein synthetisches chromogenes Substrat angewendet, und die Bestimmung erfolgt über die Inaktivierung von Faktor Xa. Das Citratplasma wird mit Faktor Xa und Heparin im Überschuss inkubiert. Anschließend findet eine Quantifizierung der Restaktivität des Faktors Xa mithilfe eines synthetischen chromogenen Substrats statt:

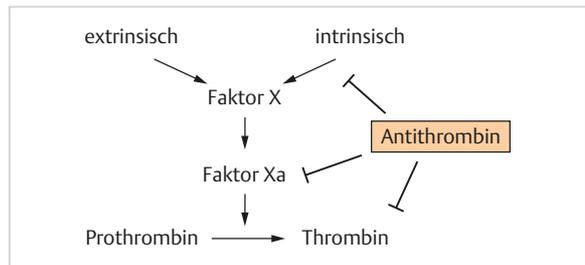


Abb. 25.14 Hemmung der Blutgerinnung durch Antithrombin.

Antithrombin-Heparin-Komplex + FXa (Überschuss) →
Antithrombin-Heparin-FXa-Komplex + FXa (Rest)

Chromogenes Substrat $\xrightarrow{\text{FXa (Rest)}}$ Tripeptid + Farbstoff

Das freigesetzte **Paranitroanilin** wird kinetisch bei der Wellenlänge 405 nm erfasst und ist umgekehrt proportional zum Antithrombin-Gehalt der Probe.

► **Referenzbereich.** Unauffällig ist eine Antithrombin-Aktivität von **70–120%** der Norm.

► **Interpretation.** Eine dauerhaft erniedrigte Antithrombinmenge führt zu einer venösen Hyperkoagulabilität des Blutes. Erworbene Mangelsituationen finden wir bei DIC, Lebererkrankungen, Heparintherapie und massiven Thrombosen. Weitere Ursachen für erniedrigtes Antithrombin sind Sepsis, nephrotisches Syndrom, akute hämolytische Transfusionsreaktionen und Therapie mit Asparaginase.

Genetisch bedingter Antithrombin-Mangel führt zu einer verminderten Aktivität des Antithrombins bei gleichzeitig verminderter Konzentration (Typ I) oder bei gleichzeitig normaler Konzentration (Typ II).

Die Antithrombinbestimmung liefert einen Beitrag für die Erkennung von Personen mit erhöhtem Thrombose-Risiko (s. u.), allerdings nicht in der Akutphase eines thrombotischen Geschehens.

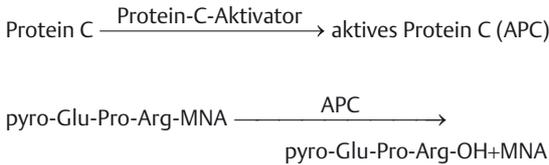
25.3.2 Protein C

Aktiviertes Protein C (**APC**) ist ein Inhibitor der Gerinnungsfaktoren **Va** (Akzelerin) und **VIIIa** (► Abb. 25.15). Außerdem fördert es die Freisetzung von **t-PA** (Tissue Plasminogen Activator). Protein C wird durch die Einwirkung von Thrombin aktiviert. Im Komplex mit Protein S hat APC die höchste Wirksamkeit. Die Synthese von Protein C erfordert ausreichende Mengen **Vitamin K**. Ein Mangel an Protein C (und/oder Protein S) führt zu einem erhöhten Thromboserisiko.

► **Indikation.** Eine Protein-C-Bestimmung wird bei Verdacht auf angeborene und erworbene Mangelzustände vorgenommen.

► **Messmethode.** Vorteilhaft ist die parallele Durchführung eines Aktivitätstests und einer Antigenbestimmung.

Beim **Aktivitätstest** wird Protein C aus der Patientenprobe mit einem speziellen Aktivator (Giftextrakt aus der Schlange Agistrodon contortrix) in aktives Protein C überführt, das dann aus einem chromogenen Substrat (pyro-Glutaminsäure-Prolyl-Arginyl-methoxy-nitroanilid) den Farbstoff (**MNA**) freisetzt:



MNA wird bei 405 nm fotometrisch gemessen. Die Steigung der Absorptionzunahme korreliert mit der Protein-C-Aktivität und wird anhand einer Bezugskurve (Normalplasmaverdünnungen) ausgewertet.

Da bei Vitamin-K-Mangel auch nicht carboxyliertes Protein C in dieser Reaktion eine Teilaktivität besitzt, kann in diesem Fall ein Protein-C-Mangel nicht richtig eingeschätzt werden. Werden Patienten mit dem Proteaseinhibitor **Aprotinin** (Trasylol) behandelt, können sich **falsch niedrige** Protein-C-Aktivitäten ergeben. Daher erhöht die zusätzliche Bestimmung der Protein-C-Proteinmenge (**Antigentest**) die diagnostische Zuverlässigkeit. Beim Antigentest wird ein Antikörper verwendet, der spezifisch für carboxyliertes Protein C ist (Vitamin K muss ausreichend vorhanden sein!).

► **Referenzbereich.** Im Allgemeinen gelten beim Aktivitätstest **70–140%** der Norm als unauffällig. Die Referenzwerte der Antigentests sind variabel (herstellerabhängig).

► **Interpretation.** Eine erworbene Protein-C-Defizienz findet sich bei Vitamin-K-Mangel, Kumarintherapie, Leberzirrhose, Autoimmunerkrankungen, schweren Infektionen und Vorliegen ausgeprägter Thrombosen. Angeborener heterozygoter Protein C-Mangel führt zu einem mit dem Lebensalter zunehmenden venösen Thromboserisiko. Homozygoter Mangel führt bereits bei Neugeborenen zu schwersten thrombotischen Krankheitszuständen. Der heterozygote Mangel ist häufig (1:250), der homozygote Mangel sehr selten (1:600 000).

25.3.3 Protein S

Protein S inhibiert zusammen mit Protein C die Faktoren **Va** und **VIIIa** (► Abb. 25.15). Als Cofaktor des aktivierten Protein C hat auch Protein S eine Inhibitorfunktion im Gerinnungssystem. Protein S (S steht für Seattle) ist ein Vitamin-K-abhängiges Glykoprotein und wird hauptsächlich in der Leber sowie von Endothelzellen gebildet. Etwa 60% des Protein S sind an das Komplementbindende Protein C4b gebunden. 40% zirkulieren in freier Form. Nur das **frei zirkulierende Protein S** wirkt als Cofaktor des aktivierten Protein C.

► **Indikation.** Es gibt keine Leitsymptome, die auf einen Protein-S-Mangel hinweisen – mit Ausnahme der Anamnese einer auffälligen, evtl. familiären Thrombosenneigung. Die Protein-S-Bestimmung ist daher bei rezidivierenden Thromboembolien, tiefen Venenthrombosen unklarer Genese oder bei differenzialdiagnostischer Abklärung einer komplexen Störung des Gerinnungssystems indiziert.

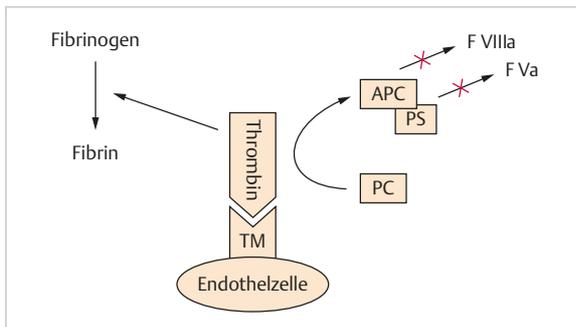


Abb. 25.15 Inhibition der Gerinnung durch Protein C und Protein S.

ligen, evtl. familiären Thrombosenneigung. Die Protein-S-Bestimmung ist daher bei rezidivierenden Thromboembolien, tiefen Venenthrombosen unklarer Genese oder bei differenzialdiagnostischer Abklärung einer komplexen Störung des Gerinnungssystems indiziert.

In der Initialphase der Kumarintherapie wurden beim angeborenen heterozygoten Protein-S-Mangel Kumarinnekrosen beobachtet, sodass die Bestimmung von Protein S und Protein C vor Beginn einer Marcumartherapie hilfreich sein kann.

► **Messmethode.** Es werden Aktivitäts- und Antigentests eingesetzt.

Beim **Aktivitätstest** wird die verdünnte Plasmaprobe mit Protein-S-freiem Plasma gemischt und der Mischung werden dann ein Faktor-Xa-haltiges Reagenz, aktiviertes Protein C und Phospholipide zugesetzt. Nach einer entsprechen Vorinkubationszeit wird Kalziumchlorid zugegeben, um die Gerinnung auszulösen. Unter diesen Bedingungen ist die Gerinnungszeit direkt proportional zur Protein-S-Konzentration in der Plasmaprobe.

Für den Antigentest (**freies Protein S-Antigen**) sind ELISA-Verfahren mit monoklonalen Antikörpern für freies Protein S oder Agglutinationstests möglich. Hier werden C4b-beschichtete Latexpartikel verwendet, die eine große Affinität für das freie Protein S in Gegenwart von Kalziumionen haben. Als Nächstes wird ein ebenfalls an Latexpartikel gebundener monoklonaler anti-Protein-S-Antikörper zugegeben. Diese Latexpartikel binden über eine Antigen-Antikörper-Reaktion unter Ausbildung von Immunkomplexen an das bereits gebundene Protein S der 1. Reaktion. Der Agglutinationsgrad wird als Trübung gemessen und ist direkt proportional zur Konzentration des freien Protein S in der Probe.

► **Referenzbereich.** Die Protein-S-Aktivität ist geschlechtsabhängig und beträgt normalerweise für **Männer 69 bis > 130%**, für **Frauen 58–114%** und für Frauen mit **Ovulationshemmern 48–106%**. In der Praxis, leider auch durch die Testqualität mitbedingt, gibt es erhebliche Überlappungen zwischen Normalbereich und subnormalem Bereich.

► **Interpretation.** Eine **erniedrigte Protein-S-Aktivität** kann das Thromboembolierisiko erhöhen; dies gilt insbesondere für den angeborenen Protein-S-Mangel in Verbindung mit zusätzlichen Risikofaktoren, wie Operationen, septische Prozesse oder genetische Prädisposition.

Verminderte Protein-S-Mengen (Aktivität oder Antigenkonzentration) können im Rahmen eines **erworbenen Mangels**, z. B. bei Vitamin-K-Mangel, bei Therapie mit oralen Antikoagulanzen, bei Lebererkrankungen und bei Einnahme oraler Kontrazeptiva oder Hormontherapie vorkommen. Andererseits kann der Protein-S-Mangel auch **angeboren** sein (► Tab. 25.5). Eine Protein-S-Aktivität < 5% deutet auf einen angeborenen, homozygoten Protein-S-Mangel hin. Der extrem seltene homozygote Protein-S-Mangel manifestiert sich schon im Neugeborenenalter durch eine Purpura fulminans und gehäuft auftretende Thromboembolien, die mit dem Leben praktisch nicht vereinbar sind.

Merke

Zwischen angeborenem und erworbenem Protein-S-Mangel muss sorgfältig unterschieden werden, da der erworbene Protein-S-Mangel bei stationären Patienten passager sehr häufig vorkommt.

Bei Lebererkrankungen, bei Kumarintherapie und bei Verbrauchs-koagulopathie ist die Protein-S-Verminderung häufig wesentlich weniger deutlich als der gleichzeitige Mangel von Protein C.

Tab. 25.5 Ursachen eines Protein-S-Mangels.

Art des Mangels	Ursachen
erworben	Synthesestörungen: Lebererkrankungen (Verminderung zusammen mit der Verminderung anderer Faktoren und Inhibitoren), Vitamin-K-Mangel, Asparaginasetherapie
	Umsatzstörungen: Verbrauchskoagulopathie (DIC), Entzündungen, Sepsis, SIRS
	Dilutionskoagulopathien: massiver Blutverlust zusammen mit anderen Faktorenmangelzuständen
	multifaktoriell: Verbrennungen, Polytrauma, große Operationen
	Protein-S-Inhibitoren: Lupusantikoagulanzien, Purpura fulminans (gelegentlich)
hereditär	Typ I: Verminderung von freiem Protein S und gesamtem Protein S sowie entsprechende Verminderung der Protein-S-Aktivität
	Typ II: verminderte Protein-S-Aktivität bei normaler oder sogar erhöhter Konzentration an freiem und gesamtem Protein S
	Typ III: freies Protein S und Protein-S-Aktivität vermindert bei normaler Konzentration an gesamtem Protein S

25.4 Diagnostik der Fibrinolyse

Worum es geht



Dem plasmatischen Gerinnungssystem steht neben dem Inhibitorsystem (Antithrombin, Protein C, Protein S) auch das Fibrinolyse-System als Gegenspieler gegenüber. Seine Komponenten (Plasminogen, Plasmininhibitor, t-PA, PAI-1) bzw. die von ihnen erzeugten Spaltprodukte (D-Dimere), können labor diagnostisch untersucht werden und Hinweise auf eine gestörte Fibrinolyse geben. Eine herabgesetzte Fibrinolyse gilt als wichtiger Faktor für die Pathogenese einer thrombophilen Diathese und Risikofaktor für die Arteriosklerose.

Das Fibrinolyse-System sorgt dafür, dass entstandene Fibrinfäden sofort wieder aufgelöst und somit aus dem Kreislauf eliminiert werden können. Das Hauptenzym des Fibrinolyse-Systems ist die Protease **Plasmin**, seine inaktive Vorstufe ist das **Plasminogen**.

25.4.1 D-Dimere

D-Dimere sind geeignet für den Ausschluss einer **venösen Thromboembolie**. Bei aktivierter Fibrinolyse spaltet Plasmin das quer vernetzte Fibrin. Die Quervernetzung des Fibrins liegt im Bereich der sog. D-Domänen und durch Einwirkung von Plasmin entstehen Fibrin spaltprodukte mit quer vernetzten D-Domänen. Die kleinste Einheit ist das D-Dimer. Erhöhungen von D-Dimere weisen daher auf eine aktive Fibrinolyse hin und sind bei thromboembolischen Situationen zu finden.

► **Indikation.** Die Untersuchung auf D-Dimere wird hauptsächlich eingesetzt zum Ausschluss thromboembolischer Erkrankungen (tiefe Beinvenenthrombose, Lungenembolie) und einer disseminierten intravasalen Gerinnung (S. 458).

► **Messmethode.** Eingesetzt werden **Immunoassays** mit hochspezifischen Antikörpern gegen die Quervernetzungsregion der Fibrin spaltprodukte. Zur Verstärkung des Messsignals sind die Antikörper üblicherweise an Mikropartikel aus Polystyrol oder Latex gebunden. Bei Vorhandensein von D-Dimeren in der Patientenprobe kommt es zu einer **Agglutination** und fotometrisch messbaren Trübungszunahme (Abnahme der Lichtdurchlässigkeit) bei 405 nm.

Das Besondere am D-Dimer ist, dass das Molekül spiegelbildlich aufgebaut ist und die Antikörperbindungsstelle in der Quer-

vernetzungsregion daher zweimal besitzt. Da das Epitop für den monoklonalen Antikörper zweimal vorhanden ist, wird für die Ausbildung größerer Antigen-Antikörper-Komplexe, die eine messbare Trübung erzeugen, im Unterschied zu vielen anderen Immunoassays nur 1 Antikörper benötigt.

► **Referenzbereich.** Dieser ist sehr stark **testabhängig**. Bei vielen Testverfahren liegt die Entscheidungsgrenze (positiv/negativ) bei **0,5 mg/l**.

Achtung



Die Testabhängigkeit kann in der klinischen Praxis zu schweren Irrtümern führen. Deshalb muss immer der für das durchgeführte Testverfahren zutreffende Referenzbereich (Entscheidungsgrenze) angegeben werden.

Die Testabhängigkeit der Referenzwerte für D-Dimere unterstreicht die Notwendigkeit, dass zu einem Laborwert immer die Angabe der Einheit und des Referenzbereiches gehören!

Typischerweise erfassen die Tests neben dem eigentlichen D-Dimer auch größere Fibrin spaltprodukte.

► **Interpretation.** Erhöhte D-Dimere sind Ausdruck einer ausgeprägten **lokalen Gerinnungsbildung** (z. B. bei tiefer Beinvenenthrombose oder Lungenembolie). Allerdings ist die Bildung von Fibrinogen spaltprodukten stark von der zeitlichen Relation zwischen Ereignis und Blutentnahme und von der Lokalisation und Ausdehnung des Thrombus abhängig. Trotzdem besitzt die D-Dimere-Bestimmung eine **hohe Sensitivität** (> 95%) für thromboembolische Ereignisse. Allerdings kann eine Erhöhung der D-Dimere auch andere Ursachen außer eine tiefe Beinvenenthrombose oder eine Lungenembolie haben, was sich in einer **bescheidenen Spezifität** von weniger als 50% zeigt. Da der negative prädiktive Wert jedoch größer 95% ist, kann die D-Dimere-Bestimmung für eine **recht sichere Ausschlussdiagnostik** verwendet werden. Im seltenen Einzelfall kann aber auch bei Ergebnissen innerhalb des Referenzbereiches ein solches Ereignis vorliegen.

Zudem besitzt die D-Dimere-Bestimmung **prognostische Bedeutung**. Erhöhte D-Dimere bei Patienten mit venöser Thromboembolie und oraler Antikoagulation können auf eine unzureichende Antikoagulation hinweisen (Evidenz niedrig). Ist das D-Dimere mehrere Wochen nach Absetzen einer oralen Antikoagulationstherapie unauffällig, ist das Rezidivrisiko gering, während Patienten mit D-Dimere-Anstieg eine verlängerte Therapie mit oralen Antikoagulanzen benötigen.

Merke



D-Dimere sind Abbauprodukte des Fibrins im Blut. Liegt z. B. eine Lungenembolie vor, ist ihre Konzentration erhöht.

25.4.2 Plasminogen

► **Indikation.** Eine Plasminogenbestimmung wird durchgeführt bei Verdacht auf angeborenen oder erworbenen Plasminogen-Mangel (DIC, Hyperfibrinolyse, Sepsis, hepatogene Koagulopathie) sowie als indirekter Nachweis einer Hyperfibrinolyse. Plasminogen ist jedoch weniger sensitiv als der Plasmininhibitor (s. u.).

► **Messmethode.** Vorgelegte Streptokinase bildet mit Plasminogen einen Komplex, der Plasminogen in Plasmin umwandelt. Anschließend erfolgt die Quantifizierung mithilfe eines synthetischen chromogenen Substrats. Freigesetztes **Paranitroanilin** wird kinetisch bei einer Wellenlänge von 405 nm erfasst und ist direkt proportional zur Plasminogen-Aktivität der Probe.

Merke



Zu beachten ist, dass in Gegenwart von Aprotinin (Trasylol®) zu niedrige Werte gemessen werden.

► **Referenzbereich.** Er liegt bei **75–140%** der Norm. Bei Neugeborenen finden sich nur etwa 50% der Erwachsenenwerte.

► **Interpretation.** Der sehr seltene **angeborene**, homozygote Mangel führt klinisch zur sog. **Pseudomembrankrankheit** mit Oberflächenschorfbildung auch an inneren Organen, geht aber wahrscheinlich nicht mit einem vermehrten Auftreten von Thrombosen einher. Ein **erworbener** Mangel findet sich bei DIC, Sepsis, hepatogener Koagulopathie sowie bei Hyperfibrinolyse.

Ein niedriger Plasminogengehalt im **Aszites** (< 26% der Norm bezogen auf Plasma) deutet auf eine erhöhte fibrinolytische Aktivität im Aszites und ein dadurch bedingtes Blutungsrisiko bei einer ggf. durchgeführten Aszites-Retransfusion hin.

25.4.3 Plasmininhibitor (α_2 -Antiplasmin)

α_2 -Antiplasmin ist ein Sofortinhibitor des Plasmins. Es bildet mit freiem Plasmin einen inaktiven Komplex. α_2 -Antiplasmin wird in den Hepatozyten synthetisiert und gilt als der **wichtigste physiologische Inhibitor der Fibrinolyse**. Ein ausgeprägter α_2 -Antiplasmin-Mangel geht mit einer erhöhten Blutungsneigung einher.

► **Indikation.** Bestimmungsindikationen sind:

- Verdacht auf Hyperfibrinolyse, z. B. bei Verbrauchskoagulopathie oder nach OP an Organen mit hohem Gehalt von Plasminogenaktivatoren
- Kontrolle der fibrinolytischen Therapie
- Verdacht auf erworbene Synthesestörung bei Hepatopathie
- Verdacht auf einen angeborenen α_2 -Antiplasmin-Mangel.

► **Messmethode.** Die Bestimmung erfolgt mittels **chromogenem Test**. Das Plasma wird mit Plasmin-Reagenz in Gegenwart von einem Überschuss Methylamin inkubiert. Anschließend findet eine Quantifizierung der Restaktivität des Plasmins mithilfe eines synthetischen chromogenen Substrats statt. Das freigesetzte **Paranitroanilin** wird kinetisch bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen und ist umgekehrt proportional zum Plasmininhibitor-Gehalt der Probe.

► **Referenzbereich.** Unauffällig sind Werte im Bereich **70–130%** der Norm; bei Neugeborenen 55–130% der Norm.

► **Interpretation.** Erniedrigte Werte finden sich hereditär (extrem selten) und können die Erklärung für eine Blutungsneigung liefern. Zu den erworbenen Ursachen gehören Hyperfibrinolyse, Lysetherapie, Leberzirrhose, Promyelozytenleukämie. Erhöhte Werte werden auch bei Diabetes mellitus beobachtet.

25.4.4 Tissue Plasminogen Aktivator (t-PA)

Plasminogenaktivatoren sind Serinproteasen, die Plasminogen in Plasmin umwandeln (► Abb. 25.16). **t-PA** und Urokinase (**u-PA**) sind nötig für die Erhaltung des Gleichgewichts zwischen Fibrin- und Plasminogenabbau und Bluten.

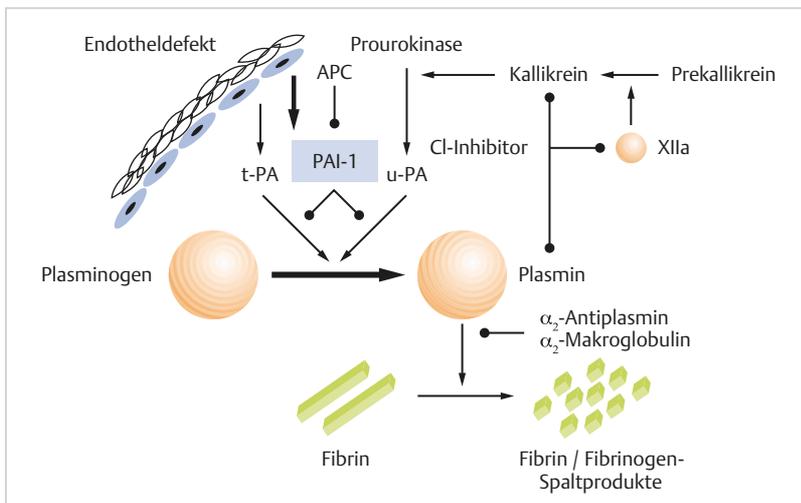


Abb. 25.16 Wirkung von Tissue Plasminogen Aktivator (t-PA), Urokinase (u-PA) und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1).

Merke

Als Hauptregulatoren des Fibrinolyse-Systems gelten der im Gefäßendothel lokalisierte Gewebe-Plasminogen-Aktivator (Tissue Plasminogen Aktivator, t-PA) und dessen Inhibitor (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1, PAI-1).

Verminderte t-PA-Aktivitäten und erhöhte PAI-1-Aktivitäten sprechen für eine eingeschränkte Fibrinolyse. Da t-PA vor allem an Fibrin gebundenes Plasminogen aktiviert, fördert es besonders die lokale Fibrinolyse.

Synthetische Abkömmlinge des t-PA werden auch therapeutisch eingesetzt. Um die Anwendung einer fibrinolytischen Therapie bei akutem Herzinfarkt zu erleichtern, wurden verschiedene synthetische Thrombolytika mit längerer Halbwertszeit als t-PA entwickelt, was eine Bolusgabe ermöglichen sollte. TNK-t-PA stellt eine solche Mutante des natürlichen t-PA dar. Durch die genetische Veränderung wurde nicht nur eine längere Halbwertszeit, sondern auch eine höhere Fibrinspezifität und eine weitgehende Resistenz gegen eine Inaktivierung durch PAI-1 erreicht.

► **Indikation.** Beurteilung der Fibrinolyse.

► **Messmethode.** Eingesetzt werden z. B. ELISA-Tests, bei denen die Mikrotiterplattenvertiefungen mit **Antikörpern gegen humanes t-PA** beschichtet sind. In die Vertiefungen werden t-PA-Standards, Plasmaproben und Kontrollen pipettiert. Während der anschließenden Inkubation bindet sich der Antikörper an das in der Probe vorliegende t-PA-Antigen. Nun wird Peroxidase konjugierter polyklonaler Antikörper gegen humanes t-PA (derselbe wie in der Beschichtung) zugefügt. Das Antikörperkonjugat lagert sich an die gebundenen t-PA-Moleküle an. Anschließend wird alles ungebundene Material ausgewaschen und ein Peroxidase-reaktives Enzymsubstrat (z. B. Orthophenylendiamin) in die Vertiefungen eingebracht. Die einsetzende Peroxidase-Substrat-Reaktion bewirkt eine gelbliche Farbentwicklung in der Lösung. Durch Zugabe von Schwefelsäure wird die Reaktion gestoppt und eine orange Färbung der Lösung bewirkt. Die Absorption dieser Lösung wird bei 490 nm gemessen und ist direkt proportional zur t-PA-Konzentration in der Probe.

► **Referenzbereich.** Für t-PA gilt ein Referenzbereich von **1,0–12 ng/ml**. Die Konzentration des t-PA-Antigens steigt mit zunehmendem Lebensalter an.

► **Interpretation.** Die t-PA-Konzentrationen im Plasma können durch Medikamenten-Wechselwirkungen beeinflusst werden und bei Rauchern niedriger liegen. In der Spätphase der Schwangerschaft sind die t-PA-Werte erhöht. Weiterhin haben Studien gezeigt, dass die Plasmaspiegel des endogenen t-PAs als **Risikomarker** für Myokardinfarkt und Schlaganfall dienen können.

25.4.5 Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1)

Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 (PAI-1) ist der **wirkungsvollste Inhibitor der Fibrinolyseaktivierung**. Im Serum sind die Konzentrationen 5-fach höher als im Plasma, da die Alpha-Granula der Thrombozyten PAI-1 enthalten. PAI-1 **hemmt t-PA und u-PA** (Urokinase-Plasminogen-Aktivator) (► Abb. 25.16).

Für die **Aktivitäts- und Antigenbestimmung** von PAI-1 sind Testkits im Handel, ihr diagnostischer Wert ist noch nicht endgültig belegt (Referenzbereich: 5–20 µg/l Antigentest, 0,3–3,5 U/ml Aktivitätstest).

Da die Fibrinolyse notwendig ist, um das Wachstum von Thromben zu kontrollieren, besteht bei PAI-1 Erhöhungen ein erhöhtes Thromboserisiko. PAI-1 ist nicht nur ein Marker für die Diagnose und Risikobewertung von Thrombosen, sondern spielt auch eine Rolle z. B. bei malignen Erkrankungen, dem schwangerschaftsinduzierten Bluthochdruck und entzündlichen Reaktionen.

25.4.6 Weitere Regulatoren der plasmatischen Gerinnung und Fibrinolyse

Einige weitere Regulatoren sind bekannt, finden aber bislang noch keine größere diagnostische Anwendung.

► **TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor).** Dieser kann den Faktor Xa inhibieren und im Weiteren zusammen mit diesem den Komplex aus Faktor VIIa und Tissue Factor (Faktor III) inaktivieren. Dadurch wird der extrinsische Weg der Blutgerinnung permanent vor einer übermäßigen Aktivierung bewahrt. Allerdings wird TFPI durch den aktivierten Faktor XI (FXIa) inaktiviert. Dadurch geht die Kontrolle des extrinsischen Weges verloren. Da bei Hämophilie A oder B die Thrombinbildung auch vom TFPI abhängig ist, sind Antikörper gegen TFPI in Entwicklung, die so die Thrombinbildung verbessern sollen.

► **TAFI (Thrombin Activable Fibrinolysis Inhibitor).** Hierbei handelt es sich um eine Carboxypeptidase, die auch als **Carboxypeptidase B2** oder **Carboxypeptidase U (CPU)** bezeichnet wird. TAFI ist ein potenter Inhibitor der Fibrinolyse und könnte diagnostisch wichtig werden bei der koronaren Herzkrankheit und thromboembolischen Ereignissen. Erhöhte TAFI-Konzentrationen bei einem bestimmten Genotyp (a-Typ) scheinen im atherosklerotischen Plaque die Plasmingenerierung herabzusetzen und den Plaque so vor Degradation durch Matrix-Metalloproteasen und vor Ruptur zu sichern.

Ein anderer Genotyp (g-Typ) geht dagegen mit leicht erniedrigten TAFI-Proteinkonzentrationen und einem erhöhten Risiko zur venösen Thrombophilie einher.

25.5 Thrombose und Thrombophilie-Diagnostik

Worum es geht



Eine rationale Thrombophilie-Diagnostik umfasst die indikations- und zeitgerechte Abklärung einer Faktor-V-Leiden-Mutation (APC-Resistenz), einer Prothrombinmutation, der hereditären Formen des Antithrombinmangels, des Protein-C- und Protein-S-Mangels, eines erhöhten Faktor-VIII-Spiegels und eines erhöhten Fibrinogenspiegels. Zusätzlich werden ggf. eine Hyperhomocysteinämie sowie das Vorliegen von Antiphospholipid-Antikörpern abgeklärt.

Definition



Unter **Thrombophilie** versteht man die Neigung, eine Thrombose zu entwickeln – sie stellt quasi den Gegensatz zur Hämophilie dar. Ihre Ausprägung wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst, die erworben (z. B. Einnahme von Kontrazeptiva, Bettlägerigkeit) oder angeboren sein können (u. a. Faktor V Leiden, Faktor-II-Mutationen). In der Bevölkerung Europas und Nordamerikas besteht ein erhöhtes Thromboserisiko („born to clot“).

Tab. 25.6 Prävalenz und relatives Risiko für venöse Thrombosen durch primäre prothrombotische Faktoren.

Gerinnungsstörung	durchschnittliche Prävalenz Nordeuropa (%)	Prävalenz im Thrombosekollektiv* (%)	relative Risikoerhöhung (x-fach)
Protein-C-Mangel (S. 459)	< 1	2,5	10–15
Protein-S-Mangel (S. 460)	< 1	1,5	3–15
Antithrombin-Mangel (S. 459)	< 0,2	0,9	15–20
Faktor-VIII-Erhöhung (S. 456)	7,5	15,6	–
Fibrinogen-Erhöhung (S. 453)	1,5	4	–
Faktor-V-Leiden-Mutation (S. 465):			
• heterozygot	6	30	5
• homozygot	0,02	3	bis 100
Prothrombin-Mutation (heterozygot) (S. 465)	3	6	2–4

* = zuschreibbarer Anteil aller Thromboserisiken (%)

Primäre und sekundäre prothrombotische Faktoren sind in ▶ Tab. 25.6 zusammengefasst (Prävalenz und relatives Risiko). Der diagnostische Stellenwert weiterer Parameter wie z. B. von Carboxypeptidase U (TAFI, s. o.) in der Routinediagnostik ist noch nicht endgültig geklärt.

Merke



Ein hohes Thromboserisiko findet sich u. a. bei der homozygoten APC-Resistenz und beim Antithrombin-Mangel.

Für die Beurteilung bzw. Abschätzung eines **individuellen Risikos** sind die Prävalenz und die relative Risikoeinschätzung wichtig. Wenn man die hohe Prävalenz der primären prothrombotischen Faktoren und die klinische Häufigkeit venöser Thrombosen berücksichtigt, wird klar, dass viele Merkmalsträger nie eine Thrombose erleiden werden. Dies muss bei der klinischen Beratung im Zusammenhang mit kurzfristigen zusätzlichen Risiken (z. B. Trauma, Immobilisierung, Schwangerschaft, Flugreisen) bzw. bei jungen Frauen im Zusammenhang mit Risiken einer Schwangerschaft oder Einnahme von Kontrazeptiva berücksichtigt werden. Längerfristige sekundäre prothrombotische Faktoren und ihr dem Thromboserisiko zuschreibbarer Anteil sind:

- orale Kontrazeptiva (16%),
- Thrombosevorerkrankungen (12%),
- Schwangerschaft (4%),
- Operationen bzw. Trauma (20%).

Das tatsächliche Vorliegen z. B. eines **Faktor V (Leiden)** ergibt ein 3- bis 5-fach erhöhtes Thromboembolierisiko in epidemiologischen Studien, das sich auf 20- bis 30-fach erhöht, wenn von der Betroffenen Kontrazeptiva eingenommen werden. Die jährliche Thromboseinzidenz im jungen Lebensalter beträgt 1/10 000 bzw. im mittleren Lebensalter 1/1 000. Entsprechend erhöht sich diese Inzidenz bei Vorliegen eines Faktor V (Leiden) und Einnahme oraler Kontrazeptiva auf bis zu 30/10 000 bei jüngeren Frauen und auf bis zu 30/1 000 bei Frauen mittleren Alters. Genauer genommen muss noch unterschieden werden, ob eine homozygote oder eine heterozygote Faktor-V-Leiden-Mutation vorliegt. Bei der seltenen homozygoten Form ist das Risiko nochmals deutlich höher (▶ Tab. 25.6). Als weiteres Beispiel betrachten wir das **Antithrombin**. Die Prävalenz eines Antithrombinmangels ist gering. Liegt er aber vor, so bedeutet das alleine eine bis zu 20-fache Erhöhung des relativen Risikos. Mehrere Risikofaktoren zusammen erhöhen das individuelle Risiko nochmals.

► **Indikationen.** Rezidivthrombosen oder atypische Lokalisationen sowie eine Häufung thromboembolischer Ereignisse in der Familienanamnese sind strenger Anlass für die Thrombophiliediagnostik ebenso wie Thrombosen in der Schwangerschaft oder wiederholte Aborte. Wichtig ist die Wahl des **richtigen Zeitpunktes** für die genannten Laboruntersuchungen (nicht in der akuten Krankheitsphase, außer Mutationsnachweise), um Wiederholungsuntersuchungen und überflüssige Kosten zu vermeiden.

Merke



Die Thromboseinzidenz ist stark vom Lebensalter abhängig: 1/100 000 im Kindesalter, aber bis 1/100 im höheren Lebensalter.

► **Rolle des Hageman-Faktors (Faktor XII).** Nach der Leiden Thrombophilia Study (LETS) hat weder der heterozygote noch der homozygote Faktor-XII-Mangel eine Bedeutung bei der Pathogenese von venösen Thrombosen. Im Tiermodell wurde jedoch der endogene Aktivator von Faktor XII gefunden, in Form von Polyphosphaten, die von Thrombozyten freigesetzt werden. Im Tierexperiment schützte die Hemmung von Faktor XII Mäuse vor letaler Thrombenbildung und reduzierte die Thrombusfestigkeit. Durch Hemmung des Faktors XII könnten Patienten möglicherweise vor Thrombusbildung geschützt werden und hätten – im Gegensatz zur Anwendung anderer Antikoagulanzen – im Fall einer Verletzung trotzdem kein erhöhtes Blutungsrisiko.

25.5.1 APC-Resistenz

Die APC-Resistenzbestimmung ist ein Suchtest für das Vorliegen einer Resistenz des Faktors V gegenüber aktiviertem Protein C. Die Resistenz gegen aktiviertes Protein C (APC) ist der **häufigste angeborene Risikofaktor** für eine Thrombophilie. Aktiviertes Protein C reduziert als ein zentraler Inhibitor im Gerinnungssystem die Thrombinbildung durch Inaktivierung der Faktoren Va und VIIIa. Die Resistenz des Gerinnungsfaktors Va gegenüber einer Inaktivierung durch Protein C führt daher zu einem gesteigerten Thromboserisiko. Die Ursache hierfür ist in über 90% der Fälle eine Punktmutation im Gen des Gerinnungsfaktors V (**Faktor-V-Leiden-Mutation**). Dabei liegt ein Austausch der Aminosäure Arg506 gegen Gln im Faktor-V-Protein vor und macht den Faktor V gegenüber einer Inaktivierung durch aktiviertes Protein C resistent. Eine weitere, seltene Mutation im Faktor-V-Gen, der **Faktor-V-Cambridge**, vermittelt ebenfalls eine APC-Resistenz.

► **Indikation.** Die Bestimmung der APC-Resistenz ist ein **Suchtest** für das Vorliegen einer Resistenz des Faktor V gegenüber aktiviertem Protein C.

► **Messmethode.** Die Messung der APC-Resistenz erfolgt über eine **modifizierte aPTT** (S.452) oder einen verdünnten **Russel's Viper Venom Test** (RVVT). Das Protein C im Patientenplasma wird mit einem Aktivator (aus Schlangengift) aktiviert und mit einem aPTT- bzw. RVVT-Reagenz inkubiert. Die Gerinnung wird durch Zugabe von Kalziumchlorid gestartet und die **Gerinnungszeit** gemessen. Diese ist bei der Faktor-V-Leiden-Mutation **verkürzt** im Vergleich zu einem 2. Test mit Normalplasma. Zur Beurteilung wird eine Ratio gebildet. Die APC-Resistenz-Bestimmung wird verfahrensabhängig u. a. beeinflusst durch Kumarintherapie, Heparintherapie und Lupusantikoagulanzen.

► **Referenzbereich.** Ratiowerte unterhalb eines testabhängigen Cut-off-Wertes sprechen für eine Faktor-V-Leiden-Mutation, die durch eine PCR-Mutationsanalytik abgeklärt werden sollte.

► **Interpretation.** Siehe Interpretation der Mutationsanalyse von Faktor V Leiden.

25.5.2 Faktor-V-Leiden-Mutation

Merke

Während die Interpretation der Aktivitätsparameter in der Akutsituation eines thrombotischen Geschehens schwierig ist, sind die molekularbiologischen Mutationsnachweise von der Akutproblematik nicht beeinflusst.

Definition

Die **Mutation-Faktor-V-Leiden** ist eine Punktmutation im Codon 1691 des Faktor-V-Gens. Die Bestimmung dient der Diagnostik von Thrombophilien. Aus der Mutation resultiert zwar keine Funktionseinschränkung des Faktors im Rahmen der Gerinnung, aber die Inaktivierung von aktiviertem Faktor V erfolgt nur unvollständig durch aktiviertes Protein C (APC-Resistenz, s. o.). Die Gerinnung wird daher physiologisch nicht limitiert und es resultiert eine Thrombosegefahr.

► **Vorkommen und Bedeutung.** Der Faktor-V-Leiden tritt im Mittel bei etwa 5 % der europäischen Bevölkerung auf, wobei seine Verbreitung in nördlichen Ländern höher ist. Die Vererbung erfolgt autosomal co-dominant, daher ist das Thromboserisiko bei **homozygoter Mutation** unverhältnismäßig höher als bei heterozygoten Trägern:

- heterozygote Träger: ca. 5-fach erhöhtes Thromboserisiko.
- homozygote Träger: bis 100-fach erhöhtes Thromboserisiko.

Außerdem steigt das Risiko für **Fehlgeburten** bei Vorliegen eines Faktor-V-Leiden etwa 2- bis 4-fach an. Zusätzliche Risikofaktoren, z. B. der Gebrauch von Kontrazeptiva, erhöhen das Risiko weiter:

- heterozygote Träger: ca. 30-fach.
- homozygote Träger: über 200-fach.

► **Nachweismethode.** PCR-Mutationsanalytik.

► **Interpretation.** Der Nachweis von Faktor-V-Leiden kann eindeutig nur über die PCR-Mutationsanalytik erfolgen, der APC-Re-

sistenztest ist zumindest bei einer „high dose“-Heparintherapie oder bei Kumarintherapie nicht aussagekräftig. Bei gleichzeitigem Vorliegen von Lupusantikoagulanzen ist der Nachweis von Faktor-V-Leiden ebenfalls ausschließlich über die PCR-Mutationsanalytik möglich. Ansonsten schließt aber ein unauffälliger APC-Resistenztest eine Faktor-V-Leiden Mutation aus.

Liegt eine APC-Resistenz bei negativer Mutationsanalyse für Faktor-V-Leiden vor und sind Lupusantikoagulanzen, Faktorenmangel oder therapeutische Interferenzen (s. o.) ausgeschlossen, kann die sehr seltene Mutation vom Typ Faktor-V-Cambridge vorliegen.

Bei positivem Mutationsnachweis(en) im Gen für Faktor V und/oder Faktor II (s. u.) sollte eine Kontrolluntersuchung von Familienmitgliedern sowie ggf. eine genetische Familienberatung erfolgen.

25.5.3 Prothrombin-Mutation 20210 (Faktor-II-Mutation)

Definition

Bei der **Prothrombin-Mutation 20210** liegt die Punktmutation im Codon 20210 im nicht translatierten Bereich, das Protein ist daher nicht verändert. Die Mutation bewirkt vermutlich eine Stabilisierung der mRNA und dadurch einen erhöhten Plasma-Prothrombinspiegel, wobei die Prothrombinkonzentration im Mittel etwa 30 % über dem Referenzbereich liegt.

Die Mutation tritt bei etwa 2 % der Bevölkerung auf. **Heterozygote** Mutationsträger besitzen ein 3- bis 4-fach erhöhtes Thromboserisiko; das Risiko steigt deutlich bei Vorliegen weiterer prädisponierender Faktoren. **Homozygote** Träger gibt es sehr selten, das Risiko ist hier etwa 20-fach erhöht. Die Vererbung erfolgt autosomal co-dominant, daher ist das Thromboserisiko bei homozygoten Merkmalsträgern unverhältnismäßig höher als bei heterozygoten. Die Mutationen im Gen von Faktor II und Faktor V treten gehäuft **kombiniert** in jeweils heterozygoter Form auf. Das individuelle Thromboserisiko steigt bei solchen Kombinationen nochmals erheblich an.

Merke

Infolge der gehäuften genetischen Kombination sollte immer eine gemeinsame Untersuchung auf Faktor-II-Mutation und Faktor-V-Leiden erfolgen.

► **Nachweismethode.** Mutationsnachweis mit PCR (S.239). Infolge der Mutation besteht zwar eine Erhöhung der Faktor-II-Konzentration im Plasma, allerdings überschneiden sich die Ergebnisse bei Gesunden und Mutanten, sodass sich die Faktor-II-Mutation funktionell nicht erfassen lässt.

25.5.4 Nachweis eines Antiphospholipid-Antikörper-Syndroms

Antiphospholipid-Antikörper sind die **häufigsten erworbenen Inhibitoren** der Gerinnung. Sie können venöse und arterielle Thromboembolien bzw. in sehr seltenen Fällen eine Blutungsneigung verursachen, aber auch ohne klinische Auswirkungen bleiben. Sie bestehen aus einer Gruppe von heterogenen Antikörpern, deren Wirkungsmechanismus teilweise noch unbekannt ist. Zwei Gruppen sind besonders zu nennen:

- Lupusantikoagulanzien bzw. Antiprothrombin-Antikörper
- Anti-Kardiolin- und Anti- β_2 -Glykoprotein-Antikörper.

Anti-Kardiolin-Antikörper und Lupusantikoagulanzien können gemeinsam oder einzeln als IgG und/oder IgM auftreten. Auch Antikörper gegen andere Phospholipidklassen (Phosphatidylino-sitol etc.) können ein Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom (APS) verursachen.

Den Verdacht auf APS lösen meist unerklärliche Thrombosen bei Patienten unter 45 Jahren oder häufige Fehlgeburten aus. Charakteristisch für das APS sind **rezidivierende Thrombosen** besonders tiefer Venen (z. B. Beinvenen), aber auch von Arterien, was zu vorübergehenden Durchblutungsstörungen des Gehirns (TIA) oder auch zum Schlaganfall führen kann. Letztlich kann aber jedes Gefäß betroffen sein, zum Teil kommt es zu ungewöhnlichen Thromboembolien (venöse Thrombosen, arterielle Gefäßverschlüsse, Apoplexien im jugendlichen Alter, Thrombosen kleiner Gefäße). Auch **häufige Fehlgeburten** (Verschluss der Blutgefäße der Plazenta) sind typisch. Patientinnen mit einem Abort in der Anamnese und erhöhter Anti-Kardiolin-Antikörper-Konzentration haben ein erhöhtes Risiko eines erneuten Aborts. Betroffen vom APS sind meist Frauen jüngerer bis mittleren Alters. Ein Drittel der Patienten zeigt fleckige, bläulich-rote Hautverfärbungen (Livedo reticularis). Die Blutplättchen sind meist leicht vermindert (75 000 bis 150 000/ μ l). Etwa jede(r) 2. Erkrankte zeigt auch einen systemischen Lupus erythematodes (S. 287).

Zum **Nachweis** eines APS gehören zumindest die Bestimmung von gerinnungswirksamen Lupusantikoagulanzien sowie der Anti-Kardiolin-Antikörper, welche sich kaum auf die Gerinnung auswirken.

Lupusantikoagulanzien (LA)

Merke

Voraussetzung für die Bestimmung der Lupusantikoagulanzien ist, dass weder eine Kumantherapie noch eine „high dose“-Heparinisierung vorliegt.

► **Messmethode.** Zum **Screening** wird ein einstufiges Dilute-Russell's-Viper-Venom-Time-Reagenz (**DRVVT-Reagenz**) verwendet. Bei entsprechender Wertekonstellation wird zusätzlich ein 2., phospholipidreiches sog. **Bestätigungsreagenz** verwendet. Wenn der LA-Screeningtest unauffällig ist (< 45 s), lautet das Endresultat „LA nicht nachweisbar“.

Bei verlängertem LA-Screeningtest wird der Bestätigungstest durchgeführt. Ist dessen Ergebnis unauffällig (< 38 s), liegt ein Lupusantikoagulans vor und zur Beurteilung der Schwere dient die Ratio von Screeningtest (s) und Bestätigungstest (s).

Sind allerdings die Gerinnungszeiten beim Screening- und Bestätigungstest verlängert, ist eine **Zusatzuntersuchung** notwendig: Es wird eine Mischung von Patientenprobe und Normalplasma in gleicher Menge untersucht. Ist dann die Gerinnungszeit des Screeningtests verlängert und der Bestätigungstest normal, liegen LA und ein Faktorenmangel vor. Fallen beide Tests normal aus, liegt nur ein Faktorenmangel vor. Ergeben beide Tests verlängerte Zeiten, ist dies Hinweis auf Vorliegen irgendwelcher anderer Inhibitoren.

► **Beurteilung.** Für die Interpretation des Ergebnisses des DRVVT-Tests gilt Folgendes:

- Eine Ratio < 1,2 schließt das Vorliegen von Lupusantikoagulanzien aus, unter Marcumartherapie oder bei Synthesestörung der Leber liegt der Cut-off-Wert bei 1,5.

- Eine Ratio **zwischen 1,2 und 1,5** weist auf schwach ausgeprägte Lupusantikoagulanzien hin.
- Eine Ratio > 1,5 spricht für deutlich positive Lupusantikoagulanzien.

Anti-Kardiolin-Antikörper und β_2 -Glykoprotein-Antikörper

Antikörper gegen Phospholipide (z. B. Anti-Kardiolin-Antikörper) sind ein weiterer Hinweis auf ein APS. Derzeit wird empfohlen, bei Verdacht auf APS gleichzeitig Antiphospholipid- und Anti- β_2 -Glykoprotein-Antikörper zu bestimmen, da einige APS-Patienten nur Antiphospholipid-Antikörper-positiv und andere nur β_2 -Glykoprotein-Antikörper-positiv sind. Die beim Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom nachweisbaren Antikörper reagieren alle mit Epitopen, die von den Phospholipiden und β_2 -Glykoprotein (einem Phospholipid-bindenden Plasmaprotein) als Kofaktor gebildet werden.

► **Messmethoden.** ELISA-Verfahren.

► **Beurteilung.** Bei Autoimmunerkrankungen, besonders beim SLE, finden sich häufig stark erhöhte Antikörper gegen Kardiolin oder andere Phospholipidklassen. Bei 2–5 % der Normalbevölkerung finden sich leicht erhöhte Konzentrationen von **Anti-Kardiolin-Antikörpern** und Lupusantikoagulanzien. Nach banalen Infekten sind bei Kindern in bis zu 30 % der Fälle erhöhte Antiphospholipid-Antikörper nachweisbar. Nur gegen Kardiolin gerichtete Antikörper, sog. direkte Ak, finden sich bei Syphilis, Malaria oder Borreliose.

Merke

Diagnostisch aussagekräftig sind diese Ak-Nachweise daher nur, wenn sie sich in mehrwöchigem Abstand reproduzieren lassen.

β_2 -Glykoprotein-Antikörper werden bei verschiedenen Erkrankungen im Blut nachgewiesen. Am wichtigsten ist ihr Auftreten beim Anti-Phospholipid-Syndrom, aber auch beim Vorliegen anderer Autoimmunerkrankungen (z. B. SLE) kann die Bestimmung von β_2 -Glykoprotein-Antikörpern helfen, das Risiko einer Thrombose abzuschätzen oder die Ursache einer bereits eingetretenen Thromboembolie abzuklären.

Neben mindestens 1 wiederholten Antikörpernachweis muss für die Diagnose eines Antiphospholipid-Syndroms noch zusätzlich mindestens 1 klinisches Kriterium entsprechend einer Konsensus-Konferenz vorliegen:

1. eine oder multiple Thrombosen (arteriell oder venös)
2. Schwangerschaftskomplikationen in Form
 - eines Frühaborts nach der 10. SSW
 - mindestens 3 nicht genetisch bedingter Frühaborte vor der 10. SSW oder
 - einer Frühgeburt aufgrund Präeklampsie oder Plazentain-suffizienz

25.6 Monitoring der direkten oralen Antikoagulanzien (DOAC)

Die direkten oralen Antikoagulanzien (DOAC) wirken nicht über Vitamin K wie Phenprocoumon (Marcumar), sondern greifen direkt am **Thrombin** (Dabigatran, Argatroban und Hirudin) oder am **Faktor Xa** (Rivaroxaban, Apixaban, Endoxaban) an (► Abb. 25.17). Ihre Vorteile gegenüber Marcumar sind kürzere Halbwertszeiten sowie in der Regel keine Notwendigkeit für ein

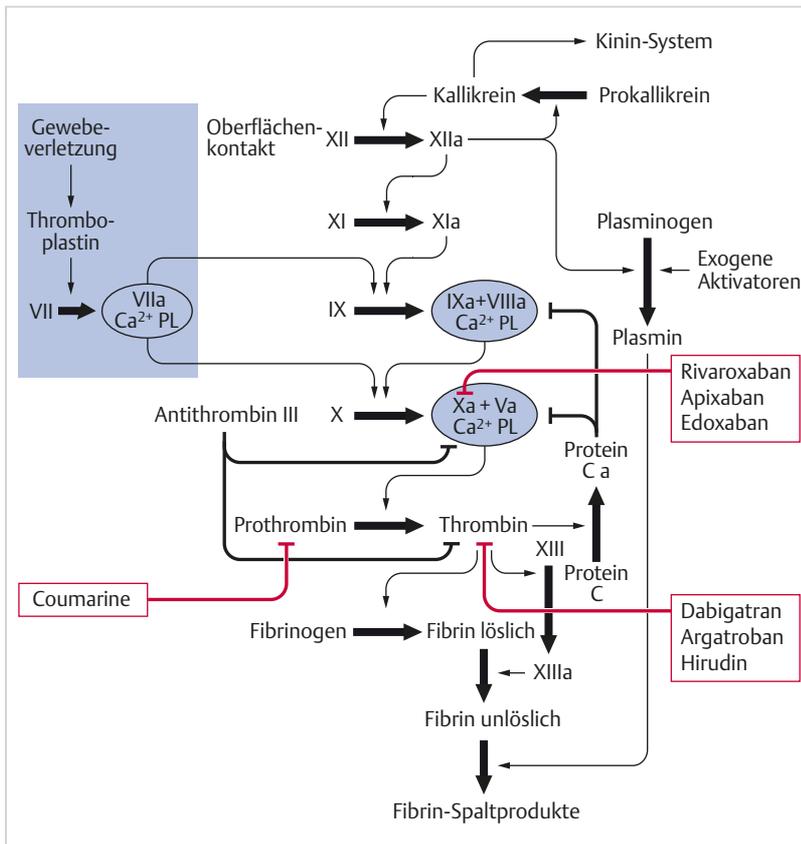


Abb. 25.17 Wirkungsweise der direkten oralen Antikoagulanzen (DOAC).

Monitoring und laborgesteuerte Dosisanpassungen. Klinisch sollte jedoch auf die Compliance, Blutungsrisiken und Arzneimittelinteraktionen geachtet werden.

Indikationen für die Untersuchung der DOAC im Plasma sind ein Intoxikationsverdacht und bei nicht ansprechbaren Patienten der Ausschluss einer relevanten Therapie mit DOAC (z. B. vor Lysetherapie von Gefäßverschlüssen). Es stehen verschiedene **Messmethoden** zur Auswahl:

► **LC-MS/MS.** Alle DOAC können hochsensitiv und sehr spezifisch quantifiziert werden (auch im subtherapeutischen Bereich). Nachteile sind ein schwierig zu realisierender 24-Stunden-7-Tage-Einsatz und ein hoher technischer Aufwand.

► **Modifizierte Thrombinzeit.** Mit dieser Methode können die direkten **Thrombininhibitoren** untersucht werden, d. h. Dabigatran, Argatroban und Hirudin (lange bekannt als Alternative zur Heparinisierung bei einer HIT Typ II). Quantitativ bestimmt wird die Anti-Faktor-IIa-Aktivität im Plasma des Patienten unter Verwendung von humanem Normalplasma als Substrat (**Clotting-test**).

Merke

Es handelt sich um keinen wirklichen Substanznachweis, sondern um die Messung der Anti-Faktor-IIa-Aktivität.



Die Gerinnungsaktivierung erfolgt durch Zugabe einer definierten Menge humanen Thrombins. Gemessen wird die Zeit bis zur Gerinnungsbildung. Erforderlich sind substanzspezifische Kalibrati-

ons- und Kontrollplasmen (z. B. für Dabigatran). Von Nachteil ist, dass die Methode mit der Substanz (Dabigatran, Argatroban oder Hirudin) kalibriert und kontrolliert werden muss, die der Patient vermutlich eingenommen hat.

Alternativ zum Clottingtest ist auch eine **kinetische chromogene Testvariante** möglich: Verdünntes Testplasma (Patient) wird mit Thrombin im Überschuss versetzt. Ein Teil des Thrombins wird durch den direkten Thrombininhibitor im Blut des Patienten gehemmt, das restliche Thrombin spaltet das chromogene Substrat und pNA wird freigesetzt, das bei 405 nm absorbiert. Die Erfordernisse der Kalibration bzw. der Kontrolle und die Nachteile sind dieselben wie beim Clottingtest.

► **Anti-Faktor-Xa-Aktivität.** Hier werden die direkten **Faktor-Xa-Inhibitoren** untersucht. Dazu wird verdünntes Patientenplasma mit humanem Faktor Xa im Überschuss versetzt. Vorhandene direkte Faktor-Xa-Inhibitoren (z. B. Rivaroxaban, Apixaban, Edoxaban) hemmen einen Teil des Faktors Xa, der restliche Faktor Xa spaltet ein chromogenes Substrat unter Freisetzung von pNA, das bei 405 nm absorbiert. Die Erfordernisse der Kalibration bzw. Kontrolle und die Nachteile sind dieselben wie beim Test für die modifizierte Thrombinzeit.

► **Interpretation.** Mit den beschriebenen Methoden ist möglich:

- ein TDM (in Sonderfällen),
- der Nachweis oder der Ausschluss einer Intoxikation und
- der Nachweis als Kontraindikation für eine Lysetherapie (z. B. nach Schlaganfall) bei nicht ansprechbaren Patienten, bei denen das Vorhandensein von DOAC nicht klinisch ausgeschlossen werden kann.

Merke

Im Fall einer Untersuchung auf DOAC vor einer Lysetherapie kommen wegen der hohen Dringlichkeit derzeit nur die modifizierte Thrombinzeit und die Anti-Faktor-Xa-Aktivitätsmessung in Frage.

25.7 Hemmkörper-Hämophilie

In seltenen Fällen können bei einer vorher gerinnungsgesunden Person plötzlich großflächige Hämatome auftreten. In diesem Fall muss an eine Hemmkörper-Hämophilie gedacht werden. Sie kann durch Alloantikörper als Komplikation bei der Substitutionstherapie von Hämophilie-Patienten auftreten oder aufgrund von Autoantikörpern, die gegen Gerinnungsfaktoren, am häufigsten gegen FVIII, gerichtet sind. Autoimmunerkrankungen, die zu einer Hemmkörper-Hämophilie führen können, sind insbesondere der Systemische Lupus Erythematoses und die Rheumatoide Arthritis. Auch paraneoplastisch, als Medikamentenreaktion oder postpartal können solche Autoantikörper auftreten.

Die Unterscheidung eines von-Willebrand-Jürgens-Syndroms als Defektkoagulopathie von einer Hemmkörper-Hämophilie veranschaulichen die folgenden klinischen Beispiele:

- Eine junge Patientin weist seit einiger Zeit vermehrt Hämatome und Petechien auf. Dies deutet auf ein von-Willebrand-Jürgens-Syndrom hin, bei dem sowohl die primäre als auch die sekundäre Blutstillung beeinträchtigt sind. Labordiagnostisch sind die aPTT und die Blutungszeit verlängert.
- Eine ebenfalls junge Patientin hat kürzlich die Diagnose SLE erhalten und im engen zeitlichen Abstand sind großflächige Blutungen aufgetreten. Hier ist eine Hemmkörper-Hämophilie wahrscheinlich.

25.8 Vollblut-Gerinnungsanalyse mit der Rotationsthrombelastometrie (ROTEM)

Das Verfahren kann als rasch verfügbare orientierende Methode zur Überprüfung des Gerinnungsstatus zeitnah und ggf. sogar bettseitig (IVU, OP) eingesetzt werden. Der Probe (Citratblut) werden unterschiedliche Aktivatoren oder Inhibitoren zugegeben, um verschiedene Funktionen der Hämostase abzubilden. Ein zylindrischer Stempel taucht in eine Küvette ein. Zwischen Stempel und Küvette verbleibt ein Spalt von 1 mm, der durch das Blut bzw. das Gerinnsel überbrückt wird. Der Stempel wird mittels einer Feder abwechselnd nach rechts und links gedreht. Solange

das Blut nicht geronnen ist, ist diese Bewegung ungehindert. Sobald das Blut gerinnt, hemmt das Gerinnsel die Drehung des Stempels und zwar zunehmend mit ansteigender Gerinnselfestigkeit. Die Drehung des Stempels ist somit umgekehrt proportional zur Gerinnselfestigkeit. Sie wird optisch aufgrund der Oszillationen des Stempels aufgezeichnet. Zugewetzte Agenzien sind:

1. **EXTEM** (Aktivierung des extrinsischen Systems): Durch die Zugabe von Tissue Faktor, Phospholipiden und Kalzium wird die Gerinnung aktiviert und die Gerinnselfestigkeit, -polymerisation und -stabilität, die Fibrinolyse und weitere Einflüsse können erfasst werden.
2. **APTEM** (wie EXTEM plus Aprotinin): Erfasst werden eine Hyperfibrinolyse/FVIII-Mangel durch Vergleich von EXTEM und APTEM.
3. **INTEM** (Aktivierung des intrinsischen Systems): Die Aktivierung erfolgt durch partielles Thromboplastin-Phospholipid, Elagsäure und Kalzium. Das INTEM ist empfindlich für Faktorenmangel im intrinsischen System (z. B. FVIII) und gegenüber Heparin (vgl. aPTT).
4. **FIBTEM** (wie APTEM plus Thrombozyteninhibitor Cytochalasin D): Das resultierende Gerinnsel ist damit nur von der Fibrinbildung und -polymerisation abhängig.
5. **HEPTEM** (wie INTEM plus Heparinase): Die Heparinase neutralisiert ggf. in der Probe vorhandenes Heparin. HEPTEM und INTEM werden verglichen und eine Verkürzung der Gerinnungszeit zeigt einen Heparineffekt auf.

Bei einer Hyperfibrinolyse ist die Amplitude (Festigkeit) verringert und es zeigt sich eine Spindelform in der Grafik.

Übungsfragen



1. Wie sind die primäre und sekundäre Hämostase definiert?
2. Welche präanalytischen Aspekte müssen bei Blutgerinnungsanalysen beachtet werden?
3. Welche Vorteile besitzt der INR-Wert gegenüber dem Quick-Wert?
4. Mit welchen Testverfahren wird welche Antikoagulationstherapie überwacht?
5. Welche Bedeutung hat der Gerinnungsfaktor XIII?
6. Wie lassen sich prinzipiell Einzelfaktoren messen?
7. Welche Inhibitoren für das plasmatische Gerinnungssystem gibt es?
8. Welches sind die wichtigsten Parameter der heutigen Thrombophilie-Diagnostik?
9. Wie unterscheiden sich labordiagnostisch die Hämophilieformen A, B und C?