

## **THROMBOPHILIE-MARKER: WAS GIBT ES NEUES ?**

### **MOLEKULARE URSACHEN UND DIAGNOSTISCHE MÖGLICHKEITEN**

Störungen des Hämostase-Gleichgewichts in Richtung PLUS, d.h. Überwiegen der pro-koagulatorischen Aktivität gegenüber der anti-koagulatorischen mit der Konsequenz einer arteriellen oder venösen Thrombose und deren Komplikationen nehmen einen großen Anteil in der Morbidität und Mortalität in der westlichen Welt ein. Es ist zwar seit langem bekannt, daß ganz offenbar genetische Faktoren eine wichtige Rolle bei der Prädisposition zu einer thrombembolischen Erkrankung spielen, jedoch war die Natur dieser Faktoren, d.h. die Ursache auf molekularer und biochemischer Ebene, bis vor wenigen Jahren weitgehend unklar.

Im Jahre 1994 gab es einen ersten Durchbruch bei der Aufklärung der molekularen Ursachen der Thrombophilie, als es Bertina in Leiden [1] gelang, eine Mutation im Faktor-V-Gen als Auslöser für einen großen Teil (ca. 20 %) der hereditären Thrombosen aufzudecken. Diese Mutation wurde als wesentliche Ursache für die 1993 von Dahlbäck [4] beschriebene APC-Resistenz bei Thrombose-Patienten erkannt. Diese inzwischen als Meilenstein der medizinischen Forschung eingeordneten Arbeiten lösten eine Welle weiterer Entdeckungen aus, die zeigten, daß eine Vielzahl von Faktoren des Hämostase-Systems entweder durch quantitative Veränderungen (Mangel eines anti-koagulatorischen oder Überschuß eines pro-koagulatorischen Prinzips) oder aber durch qualitative (Aktivitäts-) Veränderungen infolge von Punktmutationen zu einer erhöhten Thrombose-Neigung des Individuums beitragen. Schon heute können mit unserem diagnostischen Repertoire für ca.

60 % aller thrombophilen Diathesen die molekulare Ursache bestimmt und das Risiko für den Patienten daraus abgeleitet werden.

Wir können sicher sein, daß in den nächsten Jahren – auch katalysiert durch die endgültige Aufschlüsselung des menschlichen Genoms – unser Erkenntnisgerüst über die Ursachen der Thrombophilie weiter wachsen wird. Diese Entwicklung versetzt uns heute schon (und wird es künftig viel besser tun) in die Lage, durch gezielte und abgestufte diagnostische Maßnahmen bei einem Patienten, der ein familiäres Risiko für eine thrombembolische Erkrankung trägt, oder bei dem Maßnahmen geplant sind, die ein möglicherweise nicht bekanntes Risiko erhöhen (z.B. Pille, Operation), eine klare Aussage zu treffen, ob genetische Risikofaktoren für eine Thrombose vorliegen und wie hoch das Risiko für den Patienten ist. Die aus diesen diagnostischen Daten abzuleitenden präventiven Maßnahmen können so - wissenschaftlich begründet -gezielt und Risiko-adaptiert eingesetzt werden.

Aufgrund der grundlegenden praktischen Bedeutung dieser Erkenntnisse einerseits und gehäufte Anfragen von Kollegen zu dem Thema andererseits möchte ich versuchen, in Form einer Übersicht die wichtigsten Erkenntnisse auf dem Gebiet der molekularen Thrombophilieforschung der letzten Jahre zusammenzufassen und daraus eine diagnostische Strategie abzuleiten, die Sie in die Lage versetzen soll, durch eine individuelle, abgestufte Diagnostik zu einer klaren Aussage für Ihren Patienten zu gelangen.

## Hereditäre Ursachen der Thrombophilie und Prävalenz der Marker

*Definition:*  
*Thrombophilie = Zustand erworbener oder angeborener Abnormalität im Hämostase- oder Fibrinolyse-System, die erwiesenermaßen allein oder in Kombination Hauptursache einer Thromboseneigung ist.*

Die wichtigsten *Pathomechanismen*, die einer thrombophilen Diathese zugrundeliegen, sind folgende:

1. Verminderung von Inhibitoren der Gerinnung (z.B. Antithrombin, Protein C und S)
2. verzögerte Inaktivierung von Gerinnungsfaktoren (z.B. APC-Resistenz)
3. Aktivitätsanstieg von Gerinnungsfaktoren (z.B. Prothrombingen-Mutation, Faktor VIII-Erhöhung)
4. thrombozytäre Ursachen (Aggregation durch Phospholipid-AK, Thrombozythämie, "sticky platelets").

### Einige wichtige Ursachen der Thrombophilie, Auswahl

#### 1. APC-Resistenz / Faktor V-Leiden-Mutation

- häufigste hereditäre Ursache der Thrombophilie
- molekularer Defekt: Punktmutation im Faktor V-Gen (G1691A) → Faktor V kann durch Protein C in Gegenwart des Cofaktors Protein S nur unzureichend inaktiviert werden ("APC-Resistenz") → latente Hyperkoagulabilität
- Kombination einer verminderten APC-Resistenz mit oralen Kontrazeptiva → deutlich höheres Risiko !
- *APC-Resistenz-Test hat hohe Sensitivität* für die Entdeckung einer thrombophilen Diathese (> 95 %)

**Tab.1: Prävalenz angeborener thrombophiler Diathesen (nach [2] und [3], modifiziert)**

<i>Defekt bzw. Veränderung</i>	<i>Prävalenz bei Patienten * mit Venenthrombose %</i>	<i>relatives Risiko für Thrombose bei Anwesenheit eines Defektes gegenüber Abwesenheit</i>	<i>Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung %</i>
APC-Resistenz davon Faktor-V-Leiden-Mutation, heterozygot homozygot	20-30 (90 % der APC-Defekte)	5-8 50-90	5-10 5-8 < 1
Hyperhomocysteinämie davon Mutation im MTHFR-Gen, homozygot	18-25	abh. vom H-Cys-Spiegel	5-10
Mutation im Prothrombingen, heterozygot homozygot	18	ca. 3 ca. 50	1-3
Antithrombin-Mangel davon Typ I, heterozygot	0.5-5	> 10	0.02-0.2

Protein-C-Mangel, heterozygot	4-5	10	0.1-0.5
Protein-S-Mangel, heterozygot	3-5	10	< 1
TFPI-Mutation, heterozygot (tissue factor pathway inhibitor)		9	0.2
Gerinnungsfaktor VIII-Erhöhung		4-9	
Gerinnungsfaktor X-Erhöhung		5	

\* selektiertes Patientengut: Erst-Thrombose-Alter < 45 Jahre oder rezidivierende Thrombosen

## 2. Prothrombin-Genmutation

- zweithäufigste hereditäre Ursache der Thrombophilie
- Patienten mit Mutation G20210A haben höheren Prothrombinspiegel als Wildtyp
- erhöhte Prävalenz bei Faktor-V-Leiden-Trägern: Potenzierung des Risikos bei kombiniertem Defekt, Manifestation < 30 a !
- konventionelle Prothrombin-Messung nicht geeignet die Mutation aufzudecken, à *PCR-Analyse nötig*.

## 3. Antithrombin (AT)- Mangel

- AT-Werte bei Heterozygoten 40-70 % der Norm (homozygoter Mangel nicht beschrieben)
- neben quantitativem Mangel (=Typ I) auch qualitative Defekte (= Typ II, dysfunktionelles Protein durch Punktmutation) und Kombination aus beidem bekannt

## 4. Defekte des Protein-C-Systems

Protein C-System als inhibitorisches Prinzip besteht aus Thrombomodulin, dem Inhibitor Protein C und seinem Cofaktor Protein S.

- quantitative und qualitative heterozygote Defekte von Protein C und S möglich, Protein S in der freien Form wirksam (à Analytik)
- unter Antikoagulation ist Sicherung der Diagnose nur molekulargenetisch

möglich (Faktoren sind Vitamin-K-abhängig)

- orale Kontrazeptiva senken Protein S
- bei Feststellung von Protein C- oder S-Defekten unbedingt Faktor-V-Leiden-Mutation ausschließen, da diese häufig mit funktionellen Tests zur Bestimmung von Protein C und S interferiert

## 5. Hyper-Homocysteinämie (HHC)

- HHC ist als unabhängiger Risikofaktor für arterielle und venöse Gefäßverschlüsse akzeptiert: Zunahme des Risikos proportional zum H-Cys-Spiegel bei niedrigem Schwellenwert; Werte > 10 mMol/l erhöhen bereits Mortalität
- Zusätzlich zu den genetisch bedingten Enzym-defekten gibt es eine Reihe erworbener Ursachen für HHC (z.B. Mangel an Folsäure, Niereninsuffizienz) à Analyse des H-Cys-Spiegels hat Vorrang gegenüber molekulargenetischer Analyse
- *Schwere* HHC bedingt durch homozygote Mutation der Cystathion-β-Synthetase, hier Thrombosen schon in jungen Jahren
- Häufigster Defekt bei *moderater HHC*: Mutation der MTHFR, einem Enzym im Homocystein-Metabolismus
- Einfache Therapie: Folsäure-(und Vit. B12-) Gaben senken H-Cys !

## 6. Anti-Phospholipid-Antikörper-Syndrom, APLS

- Charakteristika sind Nachweis von Lupus-Antikoagulans und/oder Cardiolipin-AK, Thromboseneigung, Neigung zu Spontanaborten und Fehlgeburten, Thrombozytopenie
- Kommt häufig auch sekundär bei Autoimmunkrankheiten wie SLE, bei Infektionen oder bestimmten Medikamenten vor
- Ausgesprochene Rezidivneigung der Thrombosen bei APLS

## 7. Erhöhter Faktor VIII

- Ursachen der Faktor-VIII-Erhöhung bisher nicht bekannt, virale Genese, akute-Phase Reaktion diskutiert
  - Familiäre Häufung der Faktor-VIII-Erhöhung beschrieben, Mutationen bisher nicht identifiziert
  - Komplexe Wechselwirkungen mit Faktor-V-System, häufig auch beide Defekte zusammen
  - Erst nach wiederholter Messung kann eine erhöhte Faktor VIII als Thrombophilie-Marker angesehen werden, da viele Einflußfaktoren; Grenzwert ca. 150 IU/dl
- Erhöhung weiterer Gerinnungsfaktoren (z.B. X, XI) im Zusammenhang mit Thrombophilie beschreiben, Risikoerhöhung noch nicht exakt definiert.

### Diagnostische Strategie zur Abklärung thrombophiler Diathesen: Wer soll getestet werden ? Was soll getestet werden ?

#### Zielgruppen für die Thrombophilie-Diagnostik: Wer soll auf Thrombophilie-Marker getestet werden ?

##### A) Asymptomatische Personen:

à ungezieltes Populations-Screening medizinisch nicht sinnvoll, zu teuer  
à **Zielgruppe: Verwandte von Patienten mit symptomatischen thrombophilen Diathesen.** Warum ? Optimierung von Therapie-Entscheidungen bei Kenntnis einer thrombophilen Diathese.

Psychologisch wichtig zu wissen, daß kein genetischer Defekt vorliegt.

à **Frauen vor Verschreibung von Kontrazeptiva:** zwingend notwendig bei positiver Familienanamnese. Viele Argumente sprechen für generelle Testung **vor** Medikation ! (s.o.)

##### B) Patienten mit thrombembolischem Ereignis:

à **Zielgruppe = Pat. mit "juvenilen Thrombosen" (<45 a), positiver Familienanamnese oder rezidivierenden Thrombosen**

à bester **Zeitpunkt:** kurz nach Beendigung der initialen Antikoagulantien-Therapie bei Erreichen eines normalen Quick-Wertes. Warum ? Protein C und S sind Vitamin-K abhängig und sinken ab

unter Therapie, Antithrombin sinkt unter Heparin-Therapie.

à Testung auf Thrombophilie-Marker nach Absetzen der Antikoagulantien erlaubt kurzfristiges Reagieren auf genetische Risikofaktoren, d.h. Fortsetzung der Therapie.

## Stufendiagnostik thrombophiler Diathesen: Was soll getestet werden ?

### à **Problem: es existiert kein allgemeiner Screening-Test**

Anders als bei der Abklärung einer hämorrhagischen Diathese gibt es keine einfachen Screening-Analysen, um eine Thrombophilie auszuschließen. *Die Basis-Diagnostik umfaßt deshalb stets einen ganzen Untersuchungskomplex* à Tab.2. Es genügt nicht, sich mit einzelnen Analysen daraus zu begnügen, auch wenn schon ein Defekt bekannt ist. Häufig kommen Mehrfach-Defekte vor, die sich

nicht addieren, sondern potenzieren in bezug auf das individuelle Thrombose-Risiko.

Bei einigen pathologischen Testergebnissen ist es notwendig, mittels Feindiagnostik entweder eine Bestätigung oder eine Differenzierung eines Basistests vorzunehmen. Die wichtigsten sind in Tabelle 3 aufgeführt.

### **Welches Material wird für das Thrombophilie-Screening benötigt ?**

Die Untersuchungen nach Tabelle 2 sind möglich aus:

1 Röhrchen Vollblut (Serum)  
2 Röhrchen EDTA-Blut  
2 Röhrchen Citrat-Blut.

Zwischen Blutentnahme und Ankunft im Labor sollten nicht mehr **als 4 Stunden vergehen ! Falls nicht möglich à unbedingt das Labor kontaktieren.**

### **Einhaltung der präanalytischen Bedingungen**

ist entscheidend für Qualität der Ergebnisse. Sie erhalten vom Labor Hinweise, wie Sie vorgehen können. Bei längerer Lagerung kann Plasma gewonnen und eingefroren werden.

### **Optimal: Blutentnahme im Labor.**

Bei laufender Antikoagulantien-Medikation: Laborarzt konsultieren !

**Tab. 2: Primäre Labordiagnostik thrombophiler Diathesen (nach [2])**

Analyse	Besonderheiten	benötigtes Material
Antithrombin, Aktivität		Citratplasma
Protein-C, Aktivität und Konzentration		Citratplasma
Protein-S, gesamt und frei		Citratplasma
APC-Resistenz	Tests haben hohe Sensitivität (> 95 %) und erlauben bedingt Differenzierung homozygote / heterozygote Mutation Faktor V-Leiden	Citratplasma
Fibrinogen	Dysfibrinogenämie: meist Aktivität vermindert	Citratplasma
Gerinnungsfaktor VIII	Assoziiert mit Blutgruppe A, B oder AB	Citratplasma, binnen 4 Stunden abgetrennt ! (Instabilität) eingefroren ins Labor
Prothrombin, Faktor II	Aktivitätstests bisher nicht ausreichend sensitiv, <i>deshalb nur Mutationsnachweis /PCR valide</i>	EDTA-Vollblut für PCR
Homocystein	Konzentrationsmessung hat Vorrang	EDTA-Plasma oder Serum,

	gegenüber Mutationsnachweis des MTHFR-Gens, da extragenetische Faktoren den H-Cys-Spiegel beeinflussen	binnen 2 Stunden abgetrennt von den Zellen
Phospholipid-Antikörper	"Lupus-Antikoagulans" und ELISA auf Cardiolipin-AK	Serum und Citratplasma
Thrombozyten	Ausschluß essentieller Thrombozythämie	EDTA-Blut, nicht älter als 4 Stunden

**Tab. 3: Feindiagnostik der Thrombophilie bei pathologischen Ergebnissen im Screening-Programm**

<i>Ergebnis im Screening-Programm</i>	<i>Feinanalyse</i>	<i>indiziert wann</i>	<i>Bedeutung</i>
APC-Resistenz	Faktor-V-Gen-Mutation, PCR	pathologische oder grenzwertige APC-Befunde	Unterscheidung heterozygot/homozygot zur Risikoabschätzung !
Antithrombin-Mangel	Subtypisierung Typ I, IIa,b,c	verringerte Aktivität oder Konzentration von AT	Typ IIc diagnostisch relevant für Intervention
Protein-C Mangel	Typisierung I, II		Im Einzelfall praktische Relevanz
Protein-S-Mangel	Typisierung I, II		
<b>Zusatzprogramm</b>		wenn alle oben beschriebenen Defekte ausgeschlossen wurden:	
--	Faktor XI	s.o.	Konzentrationen oberhalb der 90. Perzentile → Verdopplung des Thromboserisikos
--	Faktor XII	s.o.	Mangel ist hier relevant
--	Faktor X	s.o.	hohe Spiegel relevant
	Sticky-platelet-Syndrom	Bei Ausschluß der anderen, häufigeren Faktoren	Spezial-Labor, Messung der Thrombozyten-Aggregation

## Literatur

1. Bertina RM & al., Nature 369 (1994), 64-7
2. Thomas L (ed), Labor und Diagnose, 5.Aufl. 1998, 594-600
3. Bergmann F & al., Hämostaseologie 19 (1999), 77-85
4. Dahlbäck B & al., Proc Natl Acad Sci USA 90 (1993), 1004

Bei Interesse an Original- und Übersichtsarbeiten zu dem Thema bitte Dr.Schön ansprechen.

© dr.ekkehard schoen 2000