

Thrombophiliediagnostik bei Empfängern von Organtransplantaten

Thrombophilia diagnostics in recipients of organ transplants

Matthias Orth^{1,*}, Marc Müller¹, Sirak Petros² and Joachim Thiery¹

¹ Universität Leipzig und Universitätsklinikum Leipzig (AÖR), Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

² Medizinische Klinik I des Universitätsklinikums Leipzig, Leipzig, Deutschland

Zusammenfassung

Durch die labormedizinische Thrombophiliediagnostik lassen sich Patienten mit einem hohen Thromboserisiko aufgrund genetischer und erworbener plasmatischer Risikofaktoren identifizieren. Mit dieser Übersicht sollen bei Organtransplantatempfängern die Möglichkeiten der labormedizinischen Thrombophiliediagnostik im Rahmen der Primärprävention von Gefäßverschlüssen und Transplantatdysfunktion dargestellt werden. Auf der Grundlage bisher publizierter Studien zeigte sich, dass die Primärprävention von Gefäßverschlüssen und Transplantatdysfunktion bei Patienten mit Nierentransplantation ein sinnvolles Einsatzgebiet der Thrombophiliediagnostik ist, während die Thrombophiliediagnostik bei Patienten mit Herztransplantation keinen generellen diagnostischen Nutzen bringt. Bei Patienten mit einer nachgewiesenen Thrombophilie sollte bei der Auswahl der Immunsuppressiva besonders ihre thrombogene Wirkung berücksichtigt und eventuell eine prophylaktische Antikoagulation erwogen werden.

Schlüsselwörter: Antikoagulation; Immunsuppression; Thrombophilie; Transplantation.

Abstract

Patients with the highest risk of recurrent thromboses due to inherited or acquired plasmatic factors can be identified by laboratory testing, the so-called "thrombo-

philia diagnostics". This review summarizes the advantages of thrombophilia diagnostics in organ transplant recipients for the primary prevention of vessel occlusion and transplant dysfunction. On the basis of published studies, the primary prevention of the transplant dysfunction of the kidney is a useful indication for thrombophilia diagnostics while this testing is only of limited use in heart transplant recipients. In patients with a proven hypercoagulable state, appropriate immunosuppressive agents should be chosen with respect to prothrombotic effects and prophylactic anticoagulation should be considered.

Keywords: anticoagulation; immunosuppression; thrombophilia; transplantation.

Die Hyperkoagulabilität ist eine der drei Ursachen einer Thrombose neben der Stase und der Verletzung des Gefäßes ("Virchow'sche Trias"). Mit der labormedizinischen Thrombophiliediagnostik lassen sich Patienten mit einer Neigung zur Hyperkoagulabilität identifizieren. Diese Thrombophiliediagnostik umfasst die Untersuchung derjenigen Proteine (Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren) und genetischen Marker, die das Auftreten eines weiteren thrombotischen Ereignisses sehr wahrscheinlich machen und bei denen daher eine therapeutische Intervention wie z.B. eine langjährige orale Antikoagulation sinnvoll sein könnte. Zur Abschätzung des Rezidivrisikos wird diese Diagnostik daher regelmäßig insbesondere bei jungen Patienten mit einer tiefen Beinvenenthrombose oder mit einer Lungenembolie durchgeführt.

Durch eine orale Antikoagulation lässt sich die Hyperkoagulabilität deutlich reduzieren und so das Thrombo-
sereizidivrisiko vermindern. Dieser positive Effekt geht allerdings zu Lasten eines erhöhten Blutungsrisikos. So zeigte sich bei Patienten mit einer venösen Thrombose im Vergleich einer sechsmonatigen Antikoagulation mit einer zeitlich unbegrenzten Antikoagulation unter einer 4-jährigen Nachbeobachtung bei kurzdauernder Antikoagulation ein höheres Rezidivrisiko mit 20,7% gegenüber 2,6% bei langdauernder Antikoagulation. Das Risiko schwerer Blutungen, das bei kurzdauernder Antikoagulation nur 2,7% betrug, war bei langdauernder Antikoagulation deutlich erhöht mit 8,6% [1]. Durch eine

*Korrespondenz: Dr. Matthias Orth, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Leipzig (AÖR), Liebigstrasse 27, D- 04103 Leipzig, Deutschland
Fax: +49 341 972 22 09
E-mail: orth@medizin.uni-leipzig.de

Abwägung zwischen möglichem Nutzen und Schaden der langdauernden Antikoagulationstherapie ist eine Stratifizierung der Patienten möglich. Die Abschätzung des Blutungsrisikos erfolgt bei dieser Stratifizierung durch den betreuenden Arzt, der die Grunderkrankung und die Kontraindikationen einer oralen Antikoagulation berücksichtigt muss und auch bewertet, ob die für eine orale Antikoagulation notwendige Compliance eingehalten werden kann. Die Beurteilung des Thromboserisikos erfolgt mittels der Thrombophiliediagnostik sowie der Wertung anderer, nicht-labormedizinischer Risikofaktoren.

Eine Thrombophiliediagnostik zur Identifizierung von Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine Thrombose ist nicht nur bei Patienten mit rezidivierenden Thrombosen der tiefen Beinvenen indiziert [2–4], sondern kann auch bei einem erhöhtem Thromboserisiko von anderen Gefäßen sinnvoll sein. Dieses erhöhte Thromboserisiko liegt häufig nach einer Organtransplantation vor.

Ziel dieser Übersicht ist, die Möglichkeiten und Einschränkungen der Thrombophiliediagnostik bei Patienten mit Transplantation von Niere, Pankreas, Leber und Herz darzustellen. Bei Patienten mit Organtransplantationen soll durch die Thrombophiliediagnostik das hohe Risiko von Gefäßverschlüssen und der Transplantatverlust in Patienten vermieden werden durch Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer thrombophilen Risikofaktoren und eine daran angepasste Therapie [5]. In einer prospektiven Studie zur Primärprävention zeigte sich, dass eine Antikoagulation von nierentransplantierten Patienten mit thrombophilen Risikofaktoren tatsächlich das Auftreten von Thrombosen im Allograft um den Faktor 2,6 reduzierte [6].

Es ist allerdings zu beachten, dass eine perioperative und postoperative Antikoagulation das Blutungsrisiko erhöht [7] und es ist zur Stratifizierung einschränkend anzumerken, dass die für generelle Empfehlungen notwendigen prospektiven Studien, die den Nutzen und die Dauer der oralen Antikoagulation oder anderer Therapien bei definierten thrombophilen Zuständen (z.B. nach Nierentransplantation) auf Gesamtmortalität und Morbidität eindeutig nachweisen [1, 8], an großen, eindeutig definierten Patientenkollektiven bislang noch nicht abgeschlossen sind.

Umfang der Thrombophiliediagnostik bei Organtransplantationen

Die Vielzahl der bislang beschriebenen thrombophilen Risikofaktoren mit sehr unterschiedlichen relativen Risiken machen es notwendig, den Umfang der "Thrombophiliediagnostik" auf Untersuchungen zu beschränken, die als etabliert gelten dürfen [4, 9]. Mit dieser Beschränkung werden die vorhandenen Ressourcen der Labormedizin sinnvoll für den größtmöglichen Nutzen der

Tabelle 1 Empfohlener Umfang der Thrombophiliediagnostik.

Protein C
Protein S
Antithrombin
Faktor VIII
Fibrinogen
Faktor V _{Leiden} (bzw. APC-Resistenz)
Prothrombin G20210A-Mutation,
Lupusantikoagulanz
Cardiolipinantikörper
Thromboplastinzeit (zum Ausschluss einer oralen Antikoagulation)

Patienten eingesetzt und eine medizinisch nutzlose Überdiagnostik vermieden.

Bei der Entscheidung über den Umfang der Thrombophiliediagnostik bei venösen Thromboembolien muss neben der Prävalenz der verschiedenen Defekte auch der für die jeweilige Analyse notwendige Aufwand berücksichtigt werden. Quantitative bzw. qualitative Veränderungen der in Tabelle 1 aufgeführten Proteine sind aber bei den in Frage kommenden Patienten so häufig bzw. die Untersuchung dieser Parameter ist ohne großen Aufwand möglich, dass diese Untersuchungen im Rahmen der Thrombophiliediagnostik durchgeführt werden sollten. Wir empfehlen grundsätzlich die Untersuchung auf das Vorliegen aller dieser Risikofaktoren, da bei einem Patienten mit einem bekannten Defekt auch weitere Defekte vorliegen können und die Art der Interaktion verschiedener Defekte (additiv oder hyperadditiv) noch nicht geklärt ist [10]. Insbesondere bei Annahme einer hyperadditiven Wirkung der verschiedenen Faktoren kommt einer umfassenden Erfassung bekannter Risikofaktoren eine besondere Bedeutung zu. Für den Faktor VIII [11] liegen im Bereich der Transplantationsmedizin nur vorläufige Ergebnisse vor. Aufgrund der Bedeutung dieses thrombophilen Risikofaktors bei der Entstehung von venösen Thrombosen kann er aber auch im Rahmen der Transplantation untersucht werden.

Vor allem beim Einsatz von membrangebundenen Hybridisierungsassays zur Detektion der Faktor V_{Leiden}-Mutation wird häufig ein funktioneller Test zur Bestimmung der aktiviertes Protein C (APC)-Resistenz als Screeningtest vorgeschaltet [12] und nur bei positiven Proben oder bei Proben im "Graubereich" die molekulare Diagnostik durchgeführt. Ein offenes Problem des funktionellen Tests ist die Befundung von Patientenproben im "Graubereich". Bei entsprechender Ausstattung des Labors lässt sich die molekulare Diagnostik ohne vorhergehenden funktionellen Tests mit einem mit der funktionellen Diagnostik vergleichbaren Aufwand durchführen. Dieses Vorgehen hat insbesondere dann deutliche Vorteile, wenn die Probe ohnehin auf das Vorliegen der Prothrombinmutation untersucht wird und daher DNA isoliert wurde. Ein möglicher Nachteil dieses Vorgehens ist das Übersehen von APC-Resistenzen, die nicht durch die Faktor V_{Leiden}-Mutation hervorgerufen werden [13].

Hierzu sind aber bei Transplantatempfängern noch keine Ergebnisse publiziert worden.

Vor der Untersuchung der empfohlenen Parameter empfehlen wir immer eine Bestimmung der Thromboplastinzeit, um so Patienten unter Therapie mit oralen Antikoagulanzen von der Diagnostik ausschließen zu können. Besonders bei Einsatz eines Screeningtests zur Messung der Interaktion von Protein C, Protein S und Faktor V ist der Ausschluss einer oralen Antikoagulanzeneinnahme besonders wichtig. Es ist zu beachten, dass selbst 2 Wochen nach dem Absetzen der oralen Antikoagulanzen noch deutlich verminderte Aktivitäten von Protein C und S gemessen werden können und dass einige Patienten aus Furcht vor einem Rezidiv die ärztliche angeordnete "Cumarinpause" zur Durchführung der Diagnostik nicht einhalten. Diese Patienten würden dann fälschlicherweise zu einer langjährigen Weiterführung der oralen Antikoagulation ohne nachgewiesenen medizinischen Nutzen geraten. Bei Hinweisen auf eine Einnahme von Vitamin K-Antagonisten sollten die dadurch beeinflussten Untersuchungen erst dann mit einer neuen Probe durchgeführt werden, wenn ein Einfluss der oralen Antikoagulanzen sicher ausgeschlossen ist.

Neben den in dieser Aufstellung erwähnten Risikofaktoren sind eine Vielzahl weiterer Parameter beschrieben worden [9, 14]. Diesen Parametern ist gemeinsam, dass sie bisher nur in wenigen wissenschaftlichen Untersuchungen untersucht wurden und daher die klinische Wertigkeit nur vorläufig angeben werden kann. Ihr potentieller klinischer Einsatz könnte bei Patienten liegen, bei denen aus klinischer Sicht eine ausgeprägte Thrombophilie sehr wahrscheinlich ist, bei denen aber die Bestimmung der oben erwähnten Parameter keine konkreten Hinweise auf eine thrombophile Diathese ergab.

Effekte der Immunsuppressiva auf die Thrombusbildung

Es ist bei der Indikationsstellung für die Thrombophiliediagnostik zu berücksichtigen, dass die verschiedenen Immunsuppressiva sich in ihren prothrombotischen bzw. antifibrinolytischen Eigenschaften unterscheiden und so einen großen Einfluss auf die Entstehung von Thrombosen haben können [6, 15–17]. Insbesondere bei Patienten mit einer diagnostizierten Thrombophilie sollten daher die Effekte der einzusetzenden Immunsuppressiva unbedingt mitberücksichtigt werden [17].

Die antifibrinolytische bzw. prothrombotische Wirkung der Immunsuppressiva ist am stärksten bei OKT3 und Steroiden und geringer bei Cyclosporin, Tacrolimus und Sirolimus. Sirolimus scheint offenbar besonders günstige Eigenschaften zu haben [18]. Da im allgemeinen aber eine Kombination von verschiedenen Immunsuppressiva gegeben wird, ist die thrombogene Wirkung des einzelnen Immunsuppressivums nur eingeschränkt quantifizierbar [19]. Offenbar beeinflussen die Immun-

suppressiva auch die Thrombozytenaggregation, was insbesondere bei Gefäßverschlüssen im arteriellen System von Bedeutung sein kann. Während Cyclosporin A die Aggregation verstärkt, scheinen Mycophenolsäure und Sirolimus die Aggregation zu inhibieren [20, 21]. Diese Eigenschaft wird therapeutisch beim Einsatz von Sirolimus-beschichteten Stents im Rahmen der Koronarendoplastie genutzt, wobei durch die Freigabe aus der Beschichtung sehr hohe lokale Konzentrationen erreicht werden können und so die Restenosierung deutlich verzögert wird [22]. Unter systemischer Gabe werden diese für Wirkung notwendigen hohen lokalen Konzentrationen aber nicht ohne schwere systemische Nebenwirkungen erreicht [23]. Ob die Thrombozytenaggregation auch direkt die venöse Thrombosebildung beeinflusst, ist noch nicht endgültig geklärt [24].

Neben den Hochrisikopatienten lassen sich durch die labormedizinische Thrombophiliediagnostik auch Transplantatempfänger ohne thrombophile Risikofaktoren identifizieren. Da bei diesen Patienten das Abstoßungsrisiko und das Risiko von venösen Gefäßverschlüssen deutlich geringer ist, können bei der Auswahl der Immunsuppression die prothrombotischen und antifibrinolytischen Eigenschaften der verschiedenen Immunsuppressiva in den Hintergrund treten.

Thrombophiliediagnostik bei Nierentransplantationen

Die große Chance der Thrombophiliediagnostik bei Nierentransplantierten ist das sehr hohe Thromboserisiko und die klar definierte Auswahl der Patienten zur möglichen Diagnostik.

Bei Patienten mit einer Nierentransplantation wird die Untersuchung auf Protein C-Mangel, auf Protein S-Mangel, auf APC-Resistenz bzw. Faktor V_{Leiden}- und Antithrombin-Mangel, der Nachweis der Prothrombinmutation G20210A und eine Untersuchung auf Lupusantikoagulanzen und Cardiolipinantikörper regelmäßig empfohlen [7]. Es ist bei der Diagnostik zu beachten, dass bei ausgeprägter Proteinurie ein sekundärer Antithrombin-Mangel auftreten kann.

Die Untersuchungen sollten im Rahmen einer Primärprophylaxe, d.h. vor der Transplantation und vor einer möglichen Thromboseerstmanifestation, durchgeführt werden. Als Zeitpunkt bietet sich eine Untersuchung bei der Vorbereitung zur Transplantation an, damit rechtzeitig vor der Transplantation anhand der vorliegenden Ergebnisse die Auswahl der Immunsuppressiva, eine adäquate perioperative Antikoagulation und die postoperative hämostaseologische Therapie und Überwachung geplant werden können. In einer Vielzahl von Studien zeigte sich eindeutig, dass die thrombophilen Risikofaktoren mit einer verzögerten Transplantatfunktion, mit häufigeren Abstoßungsreaktionen und mit einer häufigeren chronischen Transplantatdysfunktion verbunden sind [25–34].

Thrombophiliediagnostik bei kombinierter Nieren-Pankreas-Transplantation

Über eine Risikoabschätzung zur Primärprävention liegen bei der kombinierten Nieren-Pankreas-Transplantation keine Daten vor. Postoperativ scheint aber die Bestimmung des von Willebrand-Faktors Hinweise auf eine akute Endothelschädigung [35] und somit eine erhöhte Thromboseneigung zu geben [36]. Aufgrund der geringen Anzahl von Patienten und der kleinen Anzahl von Studien bei kombinierter Nieren-Pankreas-Transplantation müssen diese Daten aber noch als vorläufig angesehen werden. Zusätzlich scheint die Untersuchung auf Lupusantikoagulanz aufgrund der pathophysiologischen Mechanismen sinnvoll zu sein, auch wenn die Datenlage noch nicht zu einer endgültigen Empfehlung ausreicht [32].

Thrombophiliediagnostik bei Leber-Transplantation

In Fallberichten sind mehrere Patienten beschrieben, bei denen sich nach einer Lebertransplantation rezidivierende Thrombosen entwickelten. Durch Untersuchung von DNA des Donororgans konnte der Nachweis einer homozygoten [37] bzw. heterozygoten [38] Faktor V_{Leiden}-Mutation erbracht werden, die von den Autoren ursächlich für die rezidivierenden Thrombosen angesehen werden. Zur Vermeidung der Thrombosen wird von ihnen eine Untersuchung auf das Vorliegen der Faktor V_{Leiden}-Mutation aus DNA des Donororgans oder durch einen funktionellen Test (APC-Resistenz) empfohlen, um gegebenenfalls eine adäquate perioperative und postoperative Antikoagulation einleiten zu können. In einer retrospektiven Untersuchung zeigte sich aber, dass die Faktor V_{Leiden}-Mutation das Risiko für eine Thrombose nur um den Faktor 2,3 (95% Konfidenzintervall: 1,12–4,81) erhöhte. Die Mutation stellte aber für eine Lebervenen-thrombose (die regelmäßig zu einem Transplantatverlust führt) kein Risiko dar (OR=2,00, 95% Konfidenzintervall: 0,78–5,14) [39]. Aufgrund dieser Daten wurde die Faktor V_{Leiden}-Mutation höchstens als untergeordneter Risikofaktor für die Entstehung einer Lebervenen-thrombose angesehen.

Thrombophiliediagnostik bei Herztransplantation

Bei Herztransplantierten steht neben einer Vermeidung der Abstoßungsreaktion die Verzögerung der Transplantatatherosklerose im Vordergrund. Auf die Transplantatatherosklerose wirken vor allem die Risikofaktoren der Atherosklerose ein [40]. Aus dem Bereich der Gerinnung und Fibrinolyse scheinen insbesondere Fibrino-

gen und Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (PAI-1) bedeutsam zu sein [16, 41–45].

Nach einer Herztransplantation beeinflussen die eingesetzten Immunsuppressiva wesentlich Fibrinolyse, Gerinnung und Transplantatatherosklerose [16]. Interessant ist eine jüngste Untersuchung, die eine überlegene Wirkung einer Monotherapie von Sirolimus gegenüber der Standardtherapie auf die Transplantatvaskulopathie zeigen konnte [46]. Für eindeutige Therapieempfehlungen sollten aber noch die Ergebnisse von weiteren Studien abgewartet werden, die die Effekte einer Kombinations- und Monotherapie verschiedener Immunsuppressiva auf die Transplantatkoronaratherosklerose, auf Abstoßungsreaktionen und auf die Überlebensrate vergleichen.

Schlussfolgerung

Durch die labormedizinische Abklärung thrombophiler Risikofaktoren können Patienten mit einem deutlich erhöhten Risiko für das Auftreten von thrombotischen Erkrankungen im Rahmen von Organtransplantationen identifiziert werden. Dieses erhöhte Thromboserisiko lässt sich durch eine Antikoagulation und durch die Auswahl der Immunsuppressiva modifizieren. Eine außerordentliche hohe Aussagekraft für die Therapieoptimierung hat die Thrombophiliediagnostik bei Nieren-transplantierten in der Primärprävention von Gefäßverschlüssen und von einer Transplantatdysfunktion.

Literatur

- Schulman S, Granqvist S, Holmstrom M, Carlsson A, Lindmarker P, Nicol P, et al. The duration of oral anticoagulant therapy after a second episode of venous thromboembolism. The Duration of Anticoagulation Trial Study Group. *N Engl J Med* 1997;336(6):393–8.
- Junker R, Nowak-Göttl U, Fobker M. Der Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) C677T-Polymorphismus und andere genetische Ursachen der Hyperhomocysteinämie bei venösen Gefäßverschlüssen. *J Lab Med* 2001;25(8):239–54.
- von Depka M, Ehrenforth S. Potentielle genetische Polymorphismen der venösen Thromboembolie. *J Lab Med* 2001;25(8):277–83.
- Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem* 2001;47(9):1597–606.
- Fischereder M, Gohring P, Schneeberger H, Lohse P, Von Appen K, Samtleben W, et al. Early loss of renal transplants in patients with thrombophilia. *Transplantation* 1998;65(7):936–9.
- Friedman GS, Meier-Kriesche HU, Kaplan B, Mathis AS, Bonomini L, Shah N, et al. Hypercoagulable states in renal transplant candidates: impact of anticoagulation upon incidence of renal allograft thrombosis. *Transplantation* 2001;72(6):1073–8.
- Morrissey PE, Ramirez PJ, Gohh RY, Yango AY, Kestin A, Madras PN, et al. Management of thrombophilia in renal transplant patients. *Am J Transplant* 2002;2(9):872–6.

8. Price DT, Ridker PM. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective. *Ann Intern Med* 1997;127(10):895–903.
9. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000;95(5):1517–32.
10. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet* 1999;353(9159):1167–73.
11. Kamphuisen PW, Lensen R, Houwing-Duistermaat JJ, Eikenboom JC, Harvey M, Bertina RM, et al. Heritability of elevated factor VIII antigen levels in factor V Leiden families with thrombophilia. *Br J Haematol* 2000;109(3):519–22.
12. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(3):1004–8.
13. Franco RF, Elion J, Tavella MH, Santos SE, Zago MA. The prevalence of factor V Arg306→Thr (factor V Cambridge) and factor V Arg306→Gly mutations in different human populations. *Thromb Haemost* 1999;81(2):312–3.
14. Lopez Y, Paloma MJ, Rifon J, Cuesta B, Paramo JA. Measurement of prethrombotic markers in the assessment of acquired hypercoagulable states. *Thromb Res* 1999;93(2):71–8.
15. Freudenberger R, Alexis J, Gass A, Fuster V, Badimon J. Antithrombotic effect of FK506 vs cyclosporine in cardiac transplant recipients: potential implications in transplant arteriopathy. *J Heart Lung Transplant* 1999;18(12):1228–31.
16. Sartori TM, Maurizio PG, Sara P, Ugolino L, Annalisa A, Panagiotis T, et al. Relation between long-term steroid treatment after heart transplantation, hypofibrinolysis and myocardial microthrombi generation. *J Heart Lung Transplant* 1999;18(7):693–700.
17. Deira J, Alberca I, Lerma JL, Martin B, Tabernero JM. Changes in coagulation and fibrinolysis in the postoperative period immediately after kidney transplantation in patients receiving OKT3 or cyclosporine A as induction therapy. *Am J Kidney Dis* 1998;32(4):575–81.
18. Yango A, Morrissey P, Monaco A, Butera J, Gohh RY. Successful treatment of tacrolimus-associated thrombotic microangiopathy with sirolimus conversion and plasma exchange. *Clin Nephrol* 2002;58(1):77–8.
19. Langer RM, Kahan BD. Sirolimus does not increase the risk for postoperative thromboembolic events among renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76(2):318–23.
20. Malyszko J, Malyszko JS, Takada A, Mysliwiec M. Effects of immunosuppressive drugs on platelet aggregation in vitro. *Ann Transplant* 2002;7(1):55–68.
21. Klein BC, Bach D, Rehfeld I, Kirchhoff E, Hohfeld T, Schror K, et al. Influence of mycophenolic acid and FK-506 on human platelet activation in vitro. *Kidney Blood Press Res* 2000;23(2):119–24.
22. Lemos PA, Lee CH, Degertekin M, Saia F, Tanabe K, Arampatzis CA, et al. Early outcome after sirolimus-eluting stent implantation in patients with acute coronary syndromes: insights from the Rapamycin-Eluting Stent Evaluated At Rotterdam Cardiology Hospital (RESEARCH) registry. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(11):2093–9.
23. Brara PS, Moussavian M, Grise MA, Reilly JP, Fernandez M, Schatz RA, et al. Pilot trial of oral rapamycin for recalcitrant restenosis. *Circulation* 2003;107(13):1722–4.
24. Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. *N Engl J Med* 2003;348(15):1435–41.
25. Irish AB, Green FR, Gray DW, Morris PJ. The factor V Leiden (R506Q) mutation and risk of thrombosis in renal transplant recipients. *Transplantation* 1997;64(4):604–7.
26. Heidenreich S, Dercken C, August C, Koch HG, Nowak-Göttl U. High rate of acute rejections in renal allograft recipients with thrombophilic risk factors. *J Am Soc Nephrol* 1998;9(7):1309–13.
27. Stone JH, Amend WJ, Criswell LA. Antiphospholipid antibody syndrome in renal transplantation: occurrence of clinical events in 96 consecutive patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Kidney Dis* 1999;34(6):1040–7.
28. Ekberg H, Svensson PJ, Simanaitis M, Dahlback B. Factor V R506Q mutation (activated protein C resistance) is an additional risk factor for early renal graft loss associated with acute vascular rejection. *Transplantation* 2000;69(8):1577–81.
29. Wagenknecht DR, Fastenau DR, Torry RJ, Becker DG, LeFor WM, Carter CB, et al. Risk of early renal allograft failure is increased for patients with antiphospholipid antibodies. *Transpl Int* 2000;13 (Suppl 1):S78–81.
30. Wüthrich RP, Cicvara-Muzar S, Booy C, Maly FE. Heterozygosity for the factor V Leiden (G1691A) mutation predisposes renal transplant recipients to thrombotic complications and graft loss. *Transplantation* 2001;72(3):549–50.
31. Fischereeder M, Schneeberger H, Lohse P, Kramer BK, Schlondorff D, Land W. Increased rate of renal transplant failure in patients with the G20210A mutation of the prothrombin gene. *Am J Kidney Dis* 2001;38(5):1061–4.
32. McIntyre JA, Wagenknecht DR. Antiphospholipid antibodies. Risk assessments for solid organ, bone marrow, and tissue transplantation. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27(3):611–31.
33. Hocher B, Slowinski T, Hauser I, Vetter B, Fritschel L, Bachert D, et al. Association of factor V Leiden mutation with delayed graft function, acute rejection episodes and long-term graft dysfunction in kidney transplant recipients. *Thromb Haemost* 2002;87(2):194–8.
34. Heidenreich S, Junker R, Wolters H, Lang D, Hensing S, Nitsche G, et al. Outcome of kidney transplantation in patients with inherited thrombophilia: data of a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(1):234–9.
35. Conway DS, Pearce LA, Chin BS, Hart RG, Lip GY. Prognostic value of plasma von Willebrand factor and soluble P-selectin as indices of endothelial damage and platelet activation in 994 patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Circulation* 2003;107(25):3141–5.
36. Kessler L, Wiesel ML, Boudjema K, Lutun E, Moulin B, Cazenave JP, et al. Possible involvement of Von Willebrand factor in pancreatic graft thrombosis after kidney-pancreas transplantation: a retrospective study. *Clin Transplant* 1998;12(1):35–42.
37. Willems M, Sterneck M, Langer F, Jung R, Haddad M, Hagel C, et al. Recurrent deep-vein thrombosis based on homozygous factor V Leiden mutation acquired after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9(8):870–3.
38. Leroy-Matheron C, Duvoux C, Van Nhieu JT, Leroy K, Cherqui D, Gouault-Heilmann M. Activated protein C resistance acquired through liver transplantation and associated with recurrent venous thrombosis. *J Hepatol* 2003;38(6):866–9.
39. Hirshfield G, Collier JD, Brown K, Taylor C, Frick T, Baglin TP, et al. Donor factor V Leiden mutation and vascular

- thrombosis following liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1998;4(1):58–61.
40. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation* 2002;105(3):310–5.
 41. Fuster V, Ip JH, Badimon L, Badimon JJ, Stein B, Chesebro JH. Importance of experimental models for the development of clinical trials on thromboatherosclerosis. *Circulation* 1991;83(Suppl 6):IV15–25.
 42. Labarrere CA, Abellada GC. Vascular anticoagulation and transplant coronary artery disease. *Z Kardiol* 2000;89(Suppl 9):IX/32–5.
 43. Meckel CR, Anderson TJ, Mudge GH, Mitchell RN, Yeung AC, Selwyn AP, et al. Hemostatic/fibrinolytic predictors of allograft coronary artery disease after cardiac transplantation. *Vasc Med* 1997;2(4):306–12.
 44. Alwayn IP, Buhler L, Basker M, Goepfert C, Kawai T, Kozlowski T, et al. Coagulation/thrombotic disorders associated with organ and cell xenotransplantation. *Transplant Proc* 2000;32(5):1099.
 45. Benza RL, Grenett HE, Bourge RC, Kirklin JK, Naftel DC, Castro PF, et al. Gene polymorphisms for plasminogen activator inhibitor-1/tissue plasminogen activator and development of allograft coronary artery disease. *Circulation* 1998;98(21):2248–54.
 46. Mancini D, Pinney S, Burkhoff D, LaManca J, Itescu S, Burke E, et al. Use of rapamycin slows progression of cardiac transplantation vasculopathy. *Circulation* 2003;108(1):48–53.