Gerinnungsstörungen, Diagnostik und Substitution*

H. Vinazzer

Hamophiliezentrum Linz (Leiter: Prof Dr. H. Vinazzer)

Zusammenfassung:

Es wird zunächst die Physiologie der Blutstillung und der Blutgerinnung in großen Zügen beschrieben. Anschließend wird auf die Diagnostik der Blutgerinnungsstörungen eingegangen, wobei der Untersuchungsgang von den Gesamtgerinnungstests über die Gruppentests bis zur Bestimmung von Einzelfaktoren erläutert wird. Bei Vorliegen von Gerinnungsstörungen werden die Möglichkeiten einer Substitutionstherapie und die Indikationen für die Substitution mit fresh frozen plasma oder mit Konzentraten von Gerinnungsfaktoren oder von Thrombozyten erläutert. Auf die Therapie der Hämophilie als der häufigsten plasmatischen Gerinnungsstörung wird dabei genauer eingegangen.

Schlüsselwörter:

Blutgerinnung – hämorrhagische Diathesen – Gerinnungsdiagnostik – Substitutionstherapie

Summary:

In an introduction the physiology of hemostasis and of blood coagulation is briefly described. This is followed by a description of the test procedure of the clotting mechanism. The different methods of assays of plasmatic coagulation factors and of platelet functions are mentioned. The possibilities of substitution therapy in cases of impaired blood coagulation and the indications for substitution with fresh frozen plasma and with concentrates of coagulation factors are described. In cases of hemophilia a more detailed description of substitution is given.

Keywords:

Blood coagulation - Hemorrhagic diathesis - Diagnosis of clotting disorders - Substitution therapy

Einleitend zum Thema der Diagnostik von Gerinnungsstörungen sollen die Begriffe der Blutstillung und der Blutgerinnung erläutert werden. Unter Blutstillung versteht man die Fähigkeit des Organismus, bei einer Verletzung die damit verbundene Blutung spontan zum Stehen zu bringen. Die Blutgerinnung ist ein enzymatischer Vorgang, an dessen Ende die Umwandlung des flüssigen Fibrinogen in das feste Fibringerinnsel steht. Die Gerinnung ist daher nur ein Teil des gesamten Blutstillungsmechanismus.

Bei einer Verletzung mit Eröffnung kleiner Blutgefäße tritt zunächst eine Kontraktion des verletzten Gefäßes und der Nachbargefäße ein, wodurch der Blutstrom vermindert wird. Dadurch kommen Thrombozyten mit dem subendothelialen Kollagen in Kontakt und werden aktiviert. Die Thrombozyten sind nunmehr in der Lage, sowohl an der Verletzungsstelle als auch aneinander haften zu bleiben. Es resultiert innerhalb weniger Minuten ein Thrombozytenthrombus, der das Gefäß verschließt. Bis zu diesem Zeitpunkt ist der Gerinnungsmechanismus noch nicht in Aktion getreten. Erst bei Vorliegen einer kompletten Stase in dem verletzten Gefäß wird eine entsprechende Aktivierung der Gerinnung beobachtet und das sich bildende Fibringerinnsel verstärkt den primären Thrombozytenthrombus, so daß dieser kombinierte Verschluß auch dem Druck des nachströmenden Blutes bei Nachlassen der Gefäßkontraktion standhalten kann.

Die Aktivierung der Gerinnung beginnt mit einem Kontakt des Faktors XII, der bei Berührung mit benetzbaren Oberflächen in seine aktive Form XIIa umgewandelt wird. Dadurch wird nun der nächste Gerinnungsfaktor aktiviert und ein ähnlicher Mechanismus setzt sich über mehrere Stufen fort. Es kommt dabei aber auch zu Komplexbildungen, die auf der Oberfläche eines Phospholipidmoleküls erfolgen, das wiederum von den Thrombozyten stammt. Da alle für diese Aktivierungskette erforderlichen Substanzen aus dem Blutplasma stammen, wird dieser Mechanismus auch als endogene Gerinnung bezeichnet.

Es existiert aber noch ein zweiter Aktivierungsweg, der ein Phospholipid aus dem Gewebe, die sogenannte Gewebsthrombokinase, benötigt. Beide Aktivierungswege führen zur Umwandlung des Faktors X in Xa, also zum Entstehen eines Enzyms aus einem Proenzym. Der Weg über die Gewebsthrombokinase benötigt eine Substanz, die nicht im Blutplasma enthalten ist und wird daher auch als exogene Aktivierung der Gerinnung bezeichnet. Faktor Xa bildet wiederum einen Komplex mit Faktor V an der Oberfläche eines Phospholipidmoleküls. Dieser Komplex spaltet vom Prothrombin das aktive Enzym Thrombin ab. Dieses ist nun seinerseits imstande, das Fibrinogenmolekül durch Abspalten von mehreren kleinen Bruchstücken in das Fibrinmonomer zu verwandeln, das nun spontan polymerisiert. Es entsteht ein Gerinnsel, das noch durch den Faktor XIII verfestigt wird.

Findet sich eine Störung irgendwo in dieser Aktivierungskette, so ist der gesamte Gerinnungsvorgang abnormal. Es kann sich dabei um eine Verminderung eines Gerin-

Vortrag vom Informationstag 25 Jahre Blutspendezentrale des ÖRK.

nungsfaktors, um das Auftreten einer Hemmsubstanz oder um eine Störung der Thrombozytenfunktion handeln. Alle diese Störungen können durch entsprechende Tests nachgewiesen werden. Man unterscheidet dabei Gesamtgerinnungstests, die zwar eine Störung anzeigen können, aber eine Diagnose nicht gestatten, ferner Gruppentests, mit denen die endogene und die exogene Gerinnung getrennt untersucht werden kann sowie Einzeltests zur Bestimmung der Aktivität der verschiedenen Gerinnungsfaktoren. Schließlich existiert noch eine Reihe von Tests zur Untersuchung von Thrombozytenfunktionen. Eine Störung der Blutstillung wird mit Hilfe der Blutungszeit festgestellt, die nach verschiedenen Methoden durchgeführt werden kann.

Diese Tests sind allerdings wenig empfindlich. Eine normale Blutungszeit hat daher keinerlei Beweiskraft. Ist sie aber deutlich verlängert, so handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um eine Störung der Thrombozytenfunktion oder um eine Verminderung der Thrombozytenzahl.

Der bekannteste Gesamtgerinnungstest ist die Gerinnungszeit von Venenblut. Sie ist verlängert, wenn eine Störung im endogenen oder im gemeinsamen Aktivitätsablauf vorliegt. Dieser Test ist sehr wenig empfindlich und ist daher nur bei einer beträchtlichen Störung eindeutig pathologisch. Verlängerungen der Gerinnungszeit treten aber auch auf, wenn sich im Kreislauf eine Hemmsubstanz der Gerinnung befindet, etwa Heparin oder ein endogener Inhibitor.

Einen besseren Aufschluß über die Natur einer Störung geben die getrennte Untersuchung der endogenen und der exogenen Gerinnung. Die endogene Aktivierung wird mit Hilfe der partiellen Thromboplastinzeit bestimmt. Dazu wird dem Patientenplasma von der Gerinnungsauslösung mit Kalziumchlorid ein Phospholipid zugesetzt, das etwa der Aktivität der Phospholipide aus den Thrombozyten entspricht. Dieser Test reagiert ziemlich empfindlich auf Verminderungen der Aktivität der endogenen Faktoren, also XII, XI, IX und VIII und bildet damit auch die Grundlage der Hämophiliediagnostik.

Die exogene Gerinnung wird mit dem Quickwert untersucht. Dazu setzt man dem Plasma ein Phospholipid aus dem Gewebe zu. Dieser Test zeigt Störungen des exogenen und des gemeinsamen Aktivierungsweges an, also Verminderungen der Faktoren VII, X, V und II sowie Fibrinogen. Bei Durchführung beider Tests kann daher die Natur der Störung schon beträchtlich eingeengt werden. Bei ausschließlicher Verlängerung der partiellen Thromboplastinzeit ist der Defekt im Bereich der Faktoren XII, XI, IX oder VIII zu suchen. Bei ausschließlich pathologischem Quickwert ist eine Störung des Faktors VII naheliegend.

Liegt ein pathologischer Ausfall beider Tests vor, so ist die Störung im Bereich der Faktoren X, V, II oder Fibrinogen zu suchen. Verlängerungen treten aber auch auf, wenn sich im Plasma eine Hemmsubstanz der Gerinnung befindet, deren Anwesenheit durch einen weiteren Test ausgeschlossen werden müßte.

Der nächste diagnostische Schritt ist dann die Bestimmung der in Frage kommenden Einzelfaktoren. Dazu wird im klassischen System, bei dem der meßbare Gerinnungsbeginn immer das Ende des Tests anzeigt, ein Substratplasma verwendet. Dieses enthält alle Gerinnungsfaktoren in normaler Aktivität bis auf den zu messenden, der nicht enthalten sein darf. Wird diesem Plasma verdünntes Patientenplasma zugesetzt, so ist die Zeit von der Aktivierung der Reaktion bis zum Eintritt der Gerinnung allein

von der mit dem Patientenplasma zugeführten Menge des fehlenden Gerinnungsfaktors abhängig. Anhand einer Eichkurve können dann die gefundenen Gerinnungszeiten in entsprechende Prozentwerte umgewandelt werden.

Ein Testgemisch für die Bestimmung der Faktoren XII, XI, IX oder VIII benötigt daher neben dem entsprechenden Mangelplasma des Reagens für die partielle Thromboplastinzeit. Zur Bestimmung der Faktoren II, V, VII oder X wird neben dem Mangelplasma das System des Quickwerts verwendet. Fibrinogen kann hingegen mit einer konzentrierten Thrombinlösung und mit verdünntem Plasma ohne sonstige Reagenzien bestimmt werden.

Neben dem klassischen System nimmt in den letzten Jahren die Bestimmung mit chromogenen Substraten einen immer breiteren Raum ein. Diese Substrate werden aus nur wenigen Aminosäuren synthetisch aufgebaut. Die Sequenz dieser Aminosäuren entspricht derjenigen von Gerinnungsfaktoren an iener Stelle, an der sie vom vorhergehenden Gerinnungsenzym gespalten werden. Anstelle des Restmoleküls des Gerinnungsfaktors wird dort jedoch ein Molekül Paranitroanilin fixiert. Dieses wird von der aktiven Gerinnungssubstanz abgespalten und zwar um so rascher, je höher die Konzentration des Enzyms ist. Da außerdem das ursprüngliche Substrat farblos ist, das freie Paranitroanilin jedoch eine intensiv gelbe Farbe aufweist, kann die Bestimmung photometrisch erfolgen (4). Mit dieser Methode können sowohl aktivierte Faktoren als auch Aktivatoren und Inhibitoren gemessen werden (5, 8, 9, 11).

Es soll nun die Substitutionstherapie besprochen werden, die auch von besonderem Interesse für die Blutbanken ist.

Transfusionen von Vollblut haben zweifellos ihre Berechtigung bei schwerem akutem Blutverlust, nicht aber zur Substitution von Gerinnungsproteinen. Das geht schon daraus hervor, daß es sich bei Gerinnungsfaktoren um Spurenproteine handelt. Die häufig erforderliche Anhebung eines Gerinnungsfaktors um 40% wäre mit der Transfusion von 3 Liter Blut verbunden. Es käme also schon lange vor der Erreichung einer hämostatisch wirksamen Konzentration zu einer Volumenübertransfusion. Die Infusion von Frischplasma oder von fresh frozen plasma wird heute aus verschiedenen Gründen empfohlen. Bei der Substitution von Gerinnungsfaktoren ist diese besonders dann sinnvoll, wenn es sich um mäßige Störungen handelt, die eine massive Anhebung nicht erfordern. Dies ist etwa bei einem schweren Leberzellschaden mit Blutungsneigung der Fall, bei dem mehrere Gerinnungsfaktoren auf etwa 30% bis 40% der Norm vermindert sind. Dabei hat die Plasmatransfusion noch einen weiteren Vorteil. Bei der Leberzirrhose sind neben anderen Gerinnungsfaktoren auch Inhibitoren vermindert. Der wichtigste davon ist das Antithrombin III, das imstande ist, überschüssig entstandenes Thrombin und andere aktive Faktoren wieder abzubauen. Bei einer nur mäßigen Verminderung dieses Proteins besteht bereits eine beträchtlich erhöhte Thromboseneigung (6, 7, 12). Mit Frischplasma wird neben anderen Gerinnungsfaktoren aber auch Antithrombin III zugeführt.

Für schwere Gerinnungsstörungen werden seit mehreren Jahren Konzentrate der entsprechenden Faktoren verwendet. Man unterscheidet dabei Präparate mit mäßiger Reinigung von Gerinnungsfaktoren, wie etwa die Kryopräzipitate, von den stark gereinigten Hochkonzentraten. Folgende Faktorenkonzentrate sind derzeit im Handel: Faktor VIII, Faktor IX-Komplex (mit Faktor II und X).

Faktor VII, Fibrinogen, Faktor XIII und Antithrombin III. Wenn etwa bei einer schweren Hämophilie A die Faktor VIII-Aktivität weniger als 1% der Norm beträgt, dann wäre eine Anhebung auf 40% der Norm mit Plasma wegen der unvermeidlichen Hypervolämie nicht möglich.

Für solche Zwecke werden Konzentrate verwendet, in denen der zu substituierende Faktor in 10- bis 100fach höherer Konzentration vorliegt als im Plasma. Damit ist auch eine ausreichende Substitution mit einer nur geringen Flüssigkeitsmenge von weniger als 100 ml möglich. Zusätzlich ist auch zu bedenken, daß die Gerinnungsfaktoren kurze biologische Halbwertzeiten aufweisen, die zwischen 5 Std. und 5 Tagen liegen, was häufige Wiederholungen der Substitution bedingt. Ist etwa bei einem an schwerer Hämophilie A leidenden Patienten ein chirurgischer Eingriff nötig oder besteht eine schwere Verletzung, so muß die Aktivität des Faktors VIII auf mindestens 40% angehoben werden und muß sich über etwa 2 Wochen in diesem Bereich bewegen. Für die zur Substitution erforderlichen Menge sind verschiedene Formeln angegeben worden. Bewährt hat sich dabei eine einfache Formel, mit der aus dem Körpergewicht und dem gewünschten Anstieg des Gerinnungsfaktors die nötige Menge in Einheiten berechnet werden kann oder mit der man auch nach Injektion einer definierten Menge den zu erwartenden Anstieg ermitteln kann:

Einheiten erforderlich:

K.G. (kg) × erwünschten Anstieg % × 3

4

Erwarteter Anstieg: $\frac{\text{Einheiten injiziert} \times 4}{\text{K.G. (kg)} \times 3}$.

Selbstverständlich muß eine solche Berechnung, die nur einen Anhaltspunkt gibt, nach der Substitution durch einen entsprechenden Test verifiziert werden. Die weitere Substitution erfolgt dann jeweils mit der halben Menge nach Ablauf der Halbwertzeit, also bei einer Hämophilie A in Abständen von etwa 12 Std., bei Hämophilie B alle 24 Std.

In den Hämophiliezentren wird aber außerdem eine Dauersubstitution bei schwerer Hämophilie, besonders bei Jugendlichen, durchgeführt. Diese hat den Zweck, Dauerschäden, vor allem an den Gelenken, zu verhüten (1). Dazu genügt eine wesentlich bescheidenere Substitution, deren Höhe in eingehenden Untersuchungen ausgetestet wurde (10). Dabei zeigte sich, daß eine Injektion von 36 Einh./kg einmal pro Woche nur in den ersten beiden Tagen Gelenksblutungen verhindern konnte. Eine nur wenig bessere Wirkung wurde erzielt, wenn 2 mal pro Woche 18 E/kg gegeben wurden. Bei einer Injektion von 12 E/kg dreimal pro Woche konnten jedoch die Gelenksblutungen fast völlig unterbunden werden. Dabei war die Gesamtdosis in allen drei Gruppen die gleiche, doch erforderte die kurze Halbwertzeit den Faktor VIII eine Aufteilung in kleinere Einzeldosen. Substitutionen bei anderen Gerinnungsstörungen sind wesentlich seltener. Bei schwerer Hämophilie B wird Faktor IX substituiert, etwa in der Form von Bebulin®. Wegen der längeren Halbwertzeit dieses Faktors, die etwa 24 Std. beträgt, genügt in solchen Fällen eine Injektion jeden 4. bis 5. Tag.

Eine weitere Substitutionsmöglichkeit betrifft das Antithrombin III. Die Bedeutung dieses Proteins wird erst allmählich bekannt. Zum Unterschied von den klassischen Gerinnungsfaktoren, bei denen eine Aktivität von 40% der Norm für eine normale Hämostase völlig ausreichend ist, kann eine Verminderung von Antithrombin III auf 75% der Norm schon eine erhöhte Thromboseneignung bedeuten. Weiters wird eine normale Aktivität dieses Proteins benötigt um Heparin zur Wirkung kommen zu lassen. Besonders bei den gar nicht seltenen Fällen von schwerem Schock mit diffuser intravaskulärer Gerinnung ist auch das Antithrombin III stark vermindert. Auf eine eventuelle Heparintherapie spricht der Patient in solchen Fällen nur unzureichend an. In der Folge werden die aktivierten Gerinnungsprodukte, die den Verbrauch von Gerinnungsproteinen aufrecht erhalten, wegen des Mangels an Antithrombin III nicht rechtzeitig abgebaut (2). Bei diesen Patienten ist eine Substitution mit Antithrombin III von besonderer Bedeutung, wobei mit Hilfe dieser Substitution eine Aktivität von mindestens 80% erreicht werden soll (3). Die Bestimmung der jeweiligen Aktivität von Antithrombin III ist heute mit Hilfe der chromogenen Substrate so einfach geworden, daß sie auch in einem Akutlaboratorium ohne größere Schwierigkeiten und in wenigen Minuten durchgeführt werden kann (8).

Außer Konzentraten von Gerinnungsfaktoren werden gelegentlich auch Thrombozytenkonzentrate substituiert. Zum Unterschied von Proteinen der Gerinnung müssen Thrombozytenkonzentrate frisch hergestellt werden, was heute in größeren Blutbanken mit Hilfe eines Zellseparators möglich ist. Eine Substitution ist im allgemeinen nur dann sinnvoll, wenn die Ursache einer schweren Thrombozytopenie eine verminderte Bildung von Thrombozyten ist. Bei einer beschleunigten Zerstörung der Thrombozyten in der Peripherie ist die Halbwertzeit dieser Zellen auf minimale Werte verkürzt, so daß der Effekt einer Substitution kaum zum Tragen käme. Eine solche Substitution ist aber auch gelegentlich bei schweren Funktionsstörungen der Thrombozyten, etwa bei der Thrombasthenie, erforderlich. Bei thrombozytären Störungen der Blutstillung wird vor allem dann substituiert, wenn ein chirurgischer Eingriff unvermeidlich ist oder wenn eine schwere Verletzung vorliegt. Beim Ersatz von Thrombozyten kommen zwei Vorteile zum Tragen: Die Halbwertzeit der Thrombozyten im Kreislauf beträgt etwa 5 Tage. Außerdem erfordert eine schwere Verletzung oder ein chirurgischer Eingriff eine Substitution in der Dauer von lediglich 3 Tagen. Es ist deshalb in solchen Fällen meist eine einmalige Substitution ausreichend. Dabei soll eine Thrombozytenzahl von mindestens 150000/µl angestrebt werden. Dies erfordert bei schweren Thrombozytopenien eine Menge von 5-7 mal 10¹¹ Thrombozyten. Diese Menge kann mit Hilfe eines Zellseparators eben noch von einem Einzelspender entnommen werden. Bei einer Substitution von Thrombozyten ist auch darauf zu achten, daß nicht nur Blutgruppengleichheit besteht, sondern auch eine möglichst weitgehende Übereinstimmung im HLA-System um die Bildung von Isoantikörpern zu vermeiden.

Ein längerfristiger Thrombozytenersatz kann, meist gemeinsam mit anderen Blutelementen, bei schweren Störungen der Blutbildung erforderlich sein. Dies ist etwa bei der Panmyelophthise und bei der Therapie eines frischen Schubes einer akuten Leukämie der Fall.

Die Substitutionstherapie mit Blutderivaten nimmt heute einen breiten Platz in den modernen Behandlungsmethoden ein. Auf dem Gebiet der Gerinnung ermöglicht sie nicht nur die Durchführung von unbedingt erforderlichen Eingriffen bei bestehenden Gerinnungsstörungen, sondern auch eine wesentliche Verbesserung der Lebensqualität von Hämophilen. Voraussetzung dieser Therapieform ist eine kritische Auswahl sowohl der in Frage kommenden Patienten als auch des richtigen Konzentrates zum günstigsten Zeitpunkt und in ausreichender Dosierung.