

Hämostase im Schock*

Teil 2: Physiologie der Hämostase

Ein Beitrag der Sektion Schock der DIVI

Zusammenfassung

Die Blutstillung wird durch ein koordiniertes Zusammenspiel zellulärer und plasmatischer Komponenten gewährleistet. Unter physiologischen Bedingungen stehen hämostasefördernde und hämostasehemmende Vorgänge in einer feinen Balance. Die Thrombozyten führen durch Bildung eines hämostatischen Pfropfs eine initiale Gefäßwandabdichtung herbei, vermitteln die nachfolgende plasmatische Hämostase und tragen zur Wundheilung bei. Die Einteilung in primäre und sekundäre Hämostase folgt dem physiologischen Ablauf der Blutstillung. Während die primäre Hämostase von thrombozytären Funktionen (Adhäsion, Aktivierung und Aggregation) bestimmt wird, tritt nachfolgend eine Aktivierung des Gerinnungssystems mit Thrombinbildung und Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin ein. Unlösliches Fibrin umspannt den hämostatischen Propf wie ein Maschenwerk, stabilisiert ihn und verhindert sein Abreißen durch den Blutstrom. Ebenso wie die Gerinnung wird auch die Fibrinolyse über spezifische Aktivatoren und Proteasen ausgelöst. Direkte Wechselwirkungen zwischen den Thrombozyten sowie dem Gerinnungs- und Fibrinolyse-System gewährleisten eine phasengerechte Regulation der Hämostasekinetik.

Summary

Haemostasis is achieved by coordinated interactions of cellular and plasmic components. Under physiological conditions, pro-haemostatic and anti-

Haemostasis in shock Part 2: physiology of haemostasis

R.E. Scharf · H.A. Adams · G. Baumann · I. Cascorbi · M. Emmel · D. Fischer · S. Flohé · D. Fries · A. Gänsslen · S. Geiger · A.R. Heller · F. Hildebrand · E. Klar · H.J. Klippe · L. Lampl · H. Prange · U. Rolle · A. Sarrafzadeh · T. Standl · W. Teske · G. Werner · R. Zander – Sektion Schock der DIVI

haemostatic mechanisms are maintained in a well-balanced equilibrium. Platelets induce initial sealing of the vascular lesion by forming a haemostatic plug, mediate subsequent plasmic haemostasis and contribute to wound healing. The distinction of primary and secondary haemostasis follows the physiological sequence of haemostatic events. Primary haemostasis is controlled by platelet functions (activation, adhesion and aggregation), succeeded by activation of the coagulation system with generation of thrombin and subsequent conversion of fibrinogen into fibrin. A network of insoluble fibrin stabilizes the haemostatic plug and prevents its detachment by the flowing blood. In analogy to coagulation, initiation of fibrinolysis is triggered by specific activators and proteases. Direct interactions of platelets, coagulation and fibrinolysis warrant a phase-oriented regulation of haemostasis kinetics.

Physiologie der Hämostase

Grundlagen

Nomenklatur

Nachfolgend werden die Termini „Hämostase“ bzw. „Hämostasestörung“ verwendet, wenn der gesamte Blutstillungsapparat mit seiner zellulären und plasmatischen Komponente gemeint ist. Die Begriffe „Gerinnung“ bzw. „Gerinnungsstörung“ werden dieser Komplexität nicht ge-

* Hämostase im Schock

Teil 1: Historische Aspekte
Anästh Intensivmed 2014;55:181-189

Schlüsselwörter

Hämostase – Thrombozyten – Thrombin – Fibrinogen – Fibrin – Fibrinolyse

Keywords

Haemostasis – Platelets – Thrombin – Fibrinogen – Fibrin – Fibrinolysis

recht, da sie sich nur auf die plasmatischen Komponenten beziehen, die lediglich einen Teil des Gesamtsystems darstellen.

Diese Differenzierung hat diagnostische und therapeutische Implikationen. Mit routinemäßig durchgeführten Gerinnungssuchtests wie aPTT (aktivierte partielle Thromboplastinzeit), Prothrombinzeit (nach Quick) bzw. INR (International Normalized Ratio), und TZ (Thrombinzeit) sowie der Fibrinogenkonzentration werden lediglich plasmatische, aber nicht thrombozytäre Hämostasestörungen erfasst. Isolierte plasmatische Hämostasestörungen (= Gerinnungsstörungen) sind entgegen weit verbreiteter Auffassung selten und machen bei präoperativen unselektierten Patienten weniger als 1% aus [1].

Komponenten und hämostatisches Gleichgewicht

Mit dem Hämostasesystem hat die Natur

einen komplexen Apparat entwickelt. Seine Funktionen gewährleisten, dass nicht schon banale Schnittverletzungen zum Verbluten führen. Dies setzt voraus, dass der Blutstillungsmechanismus bei Bedarf aktiviert und danach wieder inaktiviert wird. Hierzu bedarf es genau gesteuerter Regelkreise, die hämostasefördernde und gegenläufige hämostasehemmende Prozesse in einem fein austarierten Gleichgewicht, der hämostatischen Balance, halten.

Wie andere biologische Systeme hat auch die Hämostase ihre Kehrseite: Wird die Blutstillung zur falschen Zeit am falschen Ort in Gang gesetzt, kann eine Thrombose und – bei Verschleppung thrombotischen Materials in andere Gefäßabschnitte – eine Embolie resultieren.

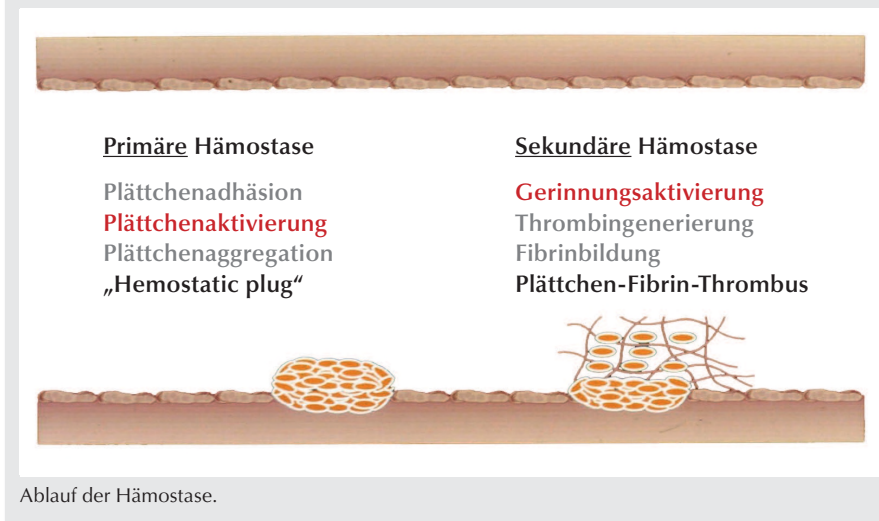
Die Blutstillung wird durch ein koordiniertes, empfindlich geregeltes Zusammenspiel zellulärer und plasmatischer Komponenten gewährleistet.

Hierzu zählen:

- die Gefäßwand – mit Endothel, Subendothel, Vasomotoren und Media;
- das Megakaryozyten-Thrombozyten (Blutplättchen)-System;
- das Gerinnungssystem – mit Gerinnungsfaktoren und -inhibitoren (wie Antithrombin, Protein C, Protein S);
- das Fibrinolyse-System – mit Fibrinolysekomponenten und -inhibitoren (wie Antiplasmin).

Zum Hämostaseapparat gehört physiologisch wie pathophysiologisch auch das Monozyten-Makrophagen- bzw. retikuloendotheliale System (RES). Im RES werden gealterte oder (bei Immunthrombozytopenien) antikörperbeladene Thrombozyten, aktivierte Gerinnungsfaktoren mit ihren Gegenspielern (z.B. Thrombin-Antithrombin-Komplexe) sowie Fibrinolysekomponenten und deren Degradationsprodukte aus dem Kreislauf eliminiert. Eine herabgesetzte Clearancefunktion des RES verstärkt komplexe

Abbildung 1



Hämostasestörungen, wie sie bei akuten oder chronischen Lebererkrankungen (fulminante Hepatitis, Leberzirrhose) mit hepatozellulären Synthesedefekten und eingeschränkter Bildung nahezu aller Gerinnungs- und Fibrinolysekomponenten vorliegen [2,3].

Die Blutstillung wird auch durch die Hämorheologie beeinflusst. Bei normalem Hämatokrit werden Thrombozyten (und Leukozyten) durch die Erythrozytenmasse im Strömungsprofil des Blutes an den Rand gedrängt. Diese Lateralisierung zirkulierender Thrombozyten begünstigt ihren Kontakt zur Gefäßwand und damit die primäre Hämostase. Dazu liegen sowohl In-vitro- [4] als auch In-vivo-Befunde vor [5]. Klinisch wurde gezeigt, dass die bei renaler Anämie häufig bestehende hämorrhagische Diathese durch Anhebung des Hämatokrits und die dadurch geänderten Fließeigenschaften des Blutes gemildert wird [6].

Darüber hinaus trägt eine reaktive Vasokonstriktion zur Blutstillung bei.

Eine effektive Blutstillung setzt das koordinierte Zusammenspiel von primärer (= zellulärer) und sekundärer (= plasmatischer) Hämostase voraus.

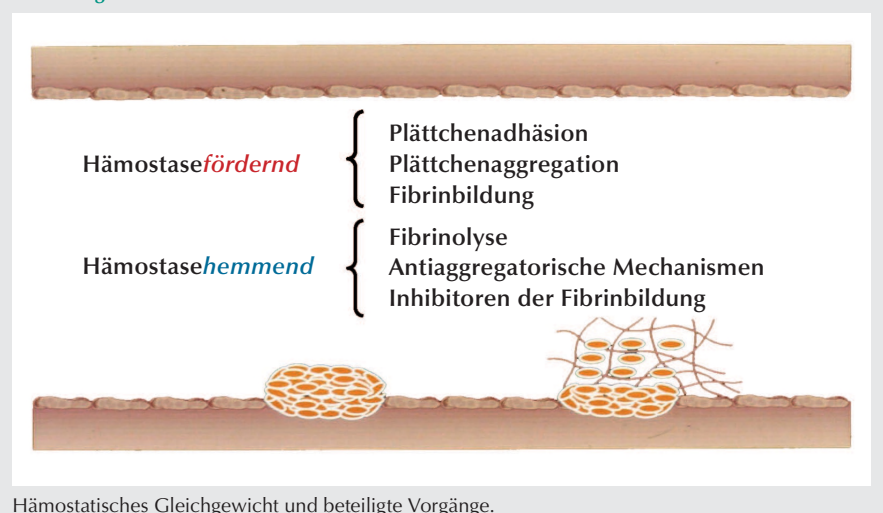
Die Einteilung in primäre und sekundäre Hämostase folgt dem physiologischen Ablauf der Blutstillung (Abb. 1). Während die erste Phase von thrombozytären Funktionen (Adhäsion, Aktivierung und Aggregation) bestimmt wird und zur Bildung eines hämostatischen Pfropfs („hemostatic plug“) führt, tritt nachfolgend eine Aktivierung des Gerinnungssystems mit Thrombinbildung und Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin ein. Unlösliches Fibrin umspannt den hämostatischen Propf wie ein Maschenwerk, stabilisiert ihn und verhindert sein Abreißen durch den Blutstrom.

Unter physiologischen Bedingungen stehen hämostasefördernde und hämostasehemmende Vorgänge in einer fein austarierten Balance.

Vereinfacht dargestellt fördern Thrombozytenadhäsion, Thrombozytenaggregation und Fibrinbildung die Hämostase, während antiaggregatorische Mechanismen, Inhibition der Fibrinbildung und Fibrinolyse die Hämostase hemmen (Abb. 2).

Defizite, Defekte und genetisch determinierte Varianten plasmatischer oder zellulärer Hämostasekomponenten können zur Dysbalance führen und Blutungen oder Thrombosen hervorrufen. Dies lässt sich pathophysiologisch am Beispiel der Thrombophilie veranschaulichen: Angeborene oder erworbene Mangelzustände an Antithrombin, Protein C oder Protein S führen – ebenso wie bestimmte Autoantikörper beim Antiphospholipid-Syndrom („Lupusantikoagulans“) – zu einer prothrombotischen Verlagerung des hämostatischen Gleichgewichts. Auch genetische Polymorphismen bestimmter Gerinnungsfaktoren (F), z.B. Mutationen von Prothrombin oder F V, können als (funktionsfördernde) „gain-of-function“-Varianten ein prokoagulatorisches Übergewicht bedingen und venöse Thromboembolien verursachen. Umgekehrt gibt es etliche genetische Defekte, die als

Abbildung 2



(funktionsmindernde) „loss-of-function“-Varianten die Balance in Richtung hämorrhagische Diathese verschieben. Beispiele sind die Hämophilie A oder B und das angeborene von-Willebrand-Syndrom.

Angeborene Defekte der primären und sekundären Hämostase

Angeborene Defekte können als Naturmodelle („humane knockout“-Modelle) dienen. Eine hämorrhagische Diathese kann sowohl durch hereditäre Störungen der Thrombozytenfunktion (Thrombozytopathien) mit defekter primärer Hämostase als auch durch angeborene Mangelzustände bestimmter Gerinnungsfaktoren – etwa des F VIII oder F IX bei Hämophilie A oder B – mit defekter sekundärer Hämostase hervorgerufen werden. Die jeweils andere Komponente des Hämostaseapparats ist dabei intakt.

Hämorrhagische Phänotypen

Der hämorrhagische Phänotyp kann wegweisend zur klinischen Einordnung der Hämostasestörung und gezielten Labordiagnostik sein:

- Petechien und mukokutane Blutungen mit unscharf begrenzten Hämatomen bei thrombozytären (oder seltenen vaskulären) Defekten,
- scharf abgegrenzte Hämatome bei plasmatischen Hämostasestörungen,
- Gelenk- und Weichteileinblutungen bei Hämophilie.

Primäre Hämostase

Thrombozyten

Zur physiologischen Funktion der Thrombozyten (Abb. 3) gehört, durch Bildung eines hämostatischen Pfropfs eine initiale Gefäßwandabdichtung herbeizuführen, die nachfolgende plasmatische Hämostase zu vermitteln und zur Wundheilung beizutragen.

Thrombozyten sind kernlose, den Megakaryozyten des Knochenmarks entstammende Zellelemente. Nach Eintritt in die Blutbahn bleibt ihre Interaktion mit der Gefäßwand unter physiologischen Bedingungen – das heißt bei intaktem

Gefäßendothel – limitiert. Dagegen führt eine Endothelschädigung mit Freilegung subendothelialer Matrixstrukturen sofort zu einer Adhäsion von Thrombozyten an die Gefäßwandläsion [7,8]. Dieser Schritt ist für die Hämostase und die Thrombogenese gleichermaßen kritisch, da Thrombozytenreaktionen nicht zwischen traumatischer, degenerativer und inflammatorischer Gefäßwandschädigung unterscheiden [7]. Daher können Thrombozyten auch infolge degenerativer oder entzündlicher Gefäßprozesse (z.B. im Bereich arteriosklerotischer Läsionen) okkludierende Thromben hervorrufen.

von-Willebrand-Faktor

Der von-Willebrand-Faktor (vWF) ist ein außergewöhnliches multimeres Adhäsivprotein. Abhängig von der Anzahl der Monomere erreicht der vWF die enorme Molekülgröße von bis zu 20.000 kD. Es ist der größte lösliche Eiweißkörper des menschlichen Organismus und kann einen Thrombozyten in seiner Zirkumferenz umspannen.

Als multifunktionelles Protein spielt der vWF eine zentrale Rolle im Hämostasesystem:

- Vermittlung der Thrombozytenadhäsion an das Subendothel im Bereich von Gefäßläsionen; hierbei kommt es nach Bindung des vWF an Kollagen zur spezifischen Interaktion mit Glykoprotein (GP) Iba, einem Bestandteil des thrombozytären GP Ib-IX-V-Rezeptorkomplexes.
- Vermittlung der Thrombozytenaggregation in Gefäßarealen mit hohen Scherraten (Mikrozirkulation, Arteriolen, arterielle Stenosen); hierbei wird vWF im Plasma an den GP IIb-IIIa-Rezeptor (Integrin α IIb β 3) der Thrombozyten gebunden.
- Trägerfunktion durch Bindung von F VIII; hierdurch wird zirkulierender F VIII vor dem vorzeitigen Abbau (z.B. durch das Protein C-System) geschützt.

Die Monomere des vWF weisen verschiedene funktionelle Domänen auf,

die als spezifische Bindungsregionen für die Interaktion mit F VIII, Kollagen, GP Iba und GP IIb-IIIa dienen. Hochmolekulare vWF-Multimere haben eine hohe hämostatische Kapazität, da sie – verglichen mit niedermolekularen Formen – ein Vielfaches solcher Bindungsstellen besitzen.

Der vWF ist in Organellen von Endothelzellen (Weibel-Palade-Bodies) und Thrombozyten (α -Granula) gespeichert und wird aus diesen Organellen ins Plasma freigesetzt.

Aktiviert Thrombozyten sezernieren vWF, wobei es sich hier um ein vorrangig lokales Phänomen handelt. Die physiologische Konzentration des vWF im Plasma beträgt um 10 μ g/ml. Durch das Vasopressin-Analogon Desmopressin kann die Freisetzung des vWF aus seinem endothelialen Speicherkompartiment pharmakologisch induziert werden.

Nach Sekretion des vWF in die Blutbahn wird das hochmolekulare Protein durch eine spezifische Metalloprotease (ADAMTS13) degradiert. Fehlt diese Protease oder ist sie durch inaktivierende Antikörper ausgeschaltet, resultieren supranormale vWF-Multimere, die zu arteriellen Thrombosen in der Mikrozirkulation führen können und z.B. bei thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura auftreten [9]. Besteht hingegen bei abnormer Hämodynamik mit pathologisch erhöhten Scherkräften – typischerweise bei hochgradiger Aortenklappenstenose – eine gesteigerte Empfindlichkeit des vWF gegenüber ADAMTS13, werden die hochmolekularen vWF-Multimere derart vermehrt degradiert, dass eine Blutungsneigung resultiert [10]. Dieses Beispiel illustriert, wie das hämostatische Gleichgewicht in beide Richtungen verschoben werden kann, hier über die Stellgröße vWF-Multimere infolge fehlender oder erhöhter ADAMTS13-Aktivität.

Ein von-Willebrand-Syndrom [11] kann durch quantitative oder qualitative Störungen des vWF hervorgerufen werden.

Ablauf der primären Hämostase

Als Antwort auf eine Gefäßwandverletzung werden zirkulierende Thrombozyten im Bereich der Läsion sofort rekrutiert und aktiviert.

Die initiale Thrombozyten-Gefäßwand-Interaktion und Thrombinbildung weist eine typische Sequenz von Interaktions- und Aktivierungsschritten auf (siehe Nummerierung in Abbildung 3):

1. Bei einer Endothelverletzung tritt innerhalb von Millisekunden eine Adhäsion zirkulierender (ruhender) Thrombozyten an das freigelegte Subendothel auf. Die extrazelluläre Matrix des Subendothels enthält verschiedene Komponenten, an die Proteine aus dem Plasma – wie vWF und Fibrinogen (Fg) – binden. Dabei erfahren vWF und Fg spezifische Konformationsänderungen, die ihrerseits Interaktionen mit korrespondierenden Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche auslösen [7].
2. Korrespondierende Thrombozytenrezeptoren sind GP Iba im GP Ib-IX-V-

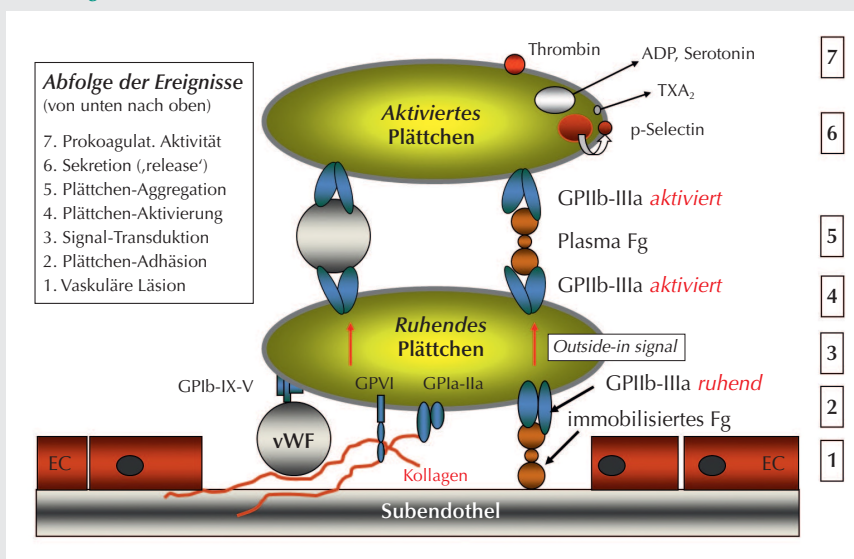
Komplex mit einer essenziellen Bindungsstelle für vWF (gebunden an Kollagen), GP VI und GP Ia-IIa (Integrin $\alpha 2\beta 1$), die beide direkt mit Kollagen interagieren, sowie GP IIb-IIIa (Integrin $\alpha IIb\beta 3$), das in seiner Ruheform lokal adsorbiertes Fibrinogen und Fibrin erkennt [12].

3. Infolge zahlreicher Rezeptor-Ligand-Interaktionen heften sich Thrombozyten an und werden durch ein von außen nach innen (in den Thrombozyten) gerichtetes Signal aktiviert („outside-in signaling“).
4. Während nichtaktiviertes GP IIb-IIIa lösliche Plasmaproteine kaum zu binden vermag, werden jetzt aktivierte Rezeptormoleküle auf der zum Gefäßlumen hin gerichteten Thrombozytenoberfläche exprimiert, die hochaffine Bindungsstellen für Fg, vWF, Thrombospondin (TSP), Vitronektin (Vn) und Fibronektin (Fn) im Plasma darstellen [7,12].
5. Nachdem sich eine erste Schicht adhätierender und sodann aktivierter Thrombozyten auf der thrombogenen Oberfläche gebildet hat, binden aktivierte GP IIb-IIIa-Rezeptoren in der Folge

adhäsive Plasmaproteine (in Abbildung 3 am Beispiel von vWF und Fg veranschaulicht).

6. In vivo wird die Thrombozytenaktivierung bei einer Gefäßwandverletzung durch die Adhäsion direkt ausgelöst. Sie wird durch Freisetzung von Agonisten wie Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Thromboxan A_2 (TXA₂) aus stimulierten Thrombozyten beschleunigt. Außerdem kommt es bei der Aktivierung und Sekretion zur Expression von Neo-Epitopen auf der Thrombozytenoberfläche (in Abbildung 3 am Beispiel von p-Selektin illustriert).
7. Nach ihrer Aktivierung bilden die Thrombozyten eine katalytische Membranoberfläche zur Aktivierung von F X (durch den „Tenase“-Komplex; „Ten“ steht für F X) und F II (durch den Prothrombinase-Komplex). Die Gerinnungsaktivierung führt zur lokal begrenzten Bildung von Thrombin. Die initial geringen Konzentrationen von Thrombin beschleunigen die Rekrutierung, Aktivierung und Einbeziehung weiterer Thrombozyten in das Thrombozytenaggregat und induzieren die Bildung von Fibrin (siehe Abschnitt „Sekundäre Hämostase“), das den hämostatischen Thrombozytenpfropf stabilisiert. Die Verfestigung („clot retraction“) des Thrombozyten-Fibrin-Thrombus erschwert dessen partielle oder komplette Ablösung von der Gefäßwand durch den Blutstrom [7,12,13].

Abbildung 3



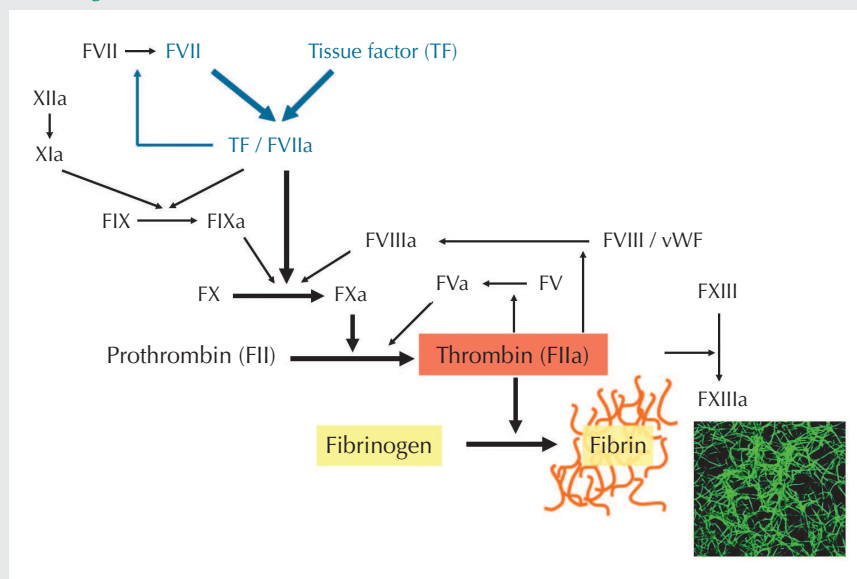
Rekrutierung und Aktivierung zirkulierender Thrombozyten (Plättchen) nach Gefäßwandläsion. Sequenz initialer Plättchenreaktionen und Mechanismen der primären (1-6) und sekundären Hämostase (7) bis zur Bildung eines Plättchen-Fibrin-Thrombus, der die effektive Blutstillung gewährleistet (aus [14]).

EC = endothelial cell, Endothelzelle. Weitere Erläuterungen siehe Text.

Sekundäre Hämostase

Das bereits im Jahr 1964 formulierte Kaskadensystem der Blutgerinnung [15,16] hat in seinen Grundzügen noch heute Bestand (Abb. 4). Ebenso wie die Gerinnung läuft auch die Aktivierung der Fibrinolyse über Proteasen ab. Direkte Querbeziehungen zwischen Gerinnungs- und Fibrinolyse-system gewährleisten unter physiologischen Bedingungen eine phasengerechte Regulation der Hämostasekinetik [17]. Hierbei nimmt Thrombin eine zentrale Rolle ein.

Abbildung 4



Auslösung, Verstärkung und Ausbreitung (Initiierung, Amplifikation und Propagierung) der Gerinnungskaskade. Entscheidend für die Initiierung ist die extrinsische Aktivierung von F VII durch Bindung an Tissue Factor, der den Rezeptor für F VII und F VIIa darstellt. Für die Amplifikation und Propagierung sind intrinsische (F XIIa, F XIa, F IXa) und weitere Verstärkermechanismen (F VIIIa, F Va) essentiell. Erst sie gewährleisten eine explosionsartige Beschleunigung („burst“) der Thrombinkatalyse mit resultierender Gerinnselfbildung nach Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin. F = Gerinnungsfaktor

Inset: Konfokale Darstellung des Fibrinnetzwerks nach Inkubation fluoreszenzmarkierten Fibrinogens mit Thrombin *in vitro*. Die Aufnahme wurde dankenswerterweise von Dr. M. Hermann, Klinik für Anästhesie und Allgemeine Intensivmedizin, Universität Innsbruck, zur Verfügung gestellt.

Bleibt die Gefäßläsion nicht auf einen Endotheldefekt beschränkt (Abb. 3), sondern erreicht auch tiefere Schichten (glatte Gefäßmuskelnzellen, Fibroblasten), wird Tissue Factor (TF; früher Gewebsthromboplastin) vermehrt freigesetzt. TF stellt den hochaffinen Rezeptor für F VII und seine aktivierte Form (F VIIa) dar. F X als Substrat wird durch diesen Enzymkomplex (extrinsische Tenase) zu F Xa aktiviert. In der Folge bindet F Xa an seinen membranassoziierten Partner F Va, der auch von Thrombozyten und Endothelzellen bereitgestellt wird. Nur in dieser Konstellation wird Prothrombin (F II) durch den Prothrombinase-Komplex zu Thrombin (F IIa) aktiviert (Abb. 4). Hierbei entstehen zunächst nur minimale Konzentrationen an Thrombin. Über positive thrombininduzierte Rückkopplungsschleifen (F V → F Va; F VIII → F VIIIa) und Verstärkermechanismen über den intrinsischen Teil der Gerin-

nungskaskade (F IX → F IXa) tritt dann eine explosionsartige Beschleunigung der Thrombinbildung („thrombin burst“) ein [18].

Die Prozesse der Gerinnungsaktivierung (Initiierung, Amplifikation und Propagierung = Auslösung, Verstärkung und Ausbreitung) laufen nicht frei im Plasma, sondern auf der Oberfläche aktivierter Thrombozyten ab. Die Thrombozytenmembran erfährt bei Stimulation eine Umverteilung, bei der bestimmte Phospholipide (PL) enzymvermittelt („Flip-flop“) von innen nach außen wechseln („flip-flop“) und nun eine katalytische Oberfläche („platelet procoagulant activity“) für Gerinnungsfaktoren bilden (siehe Nr. 7 in Abbildung 3).

- Die Bildung des Tenase- (F IXa-VIIIa-Ca⁺⁺-PL) und Prothrombinase-Komplexes (F Xa-Va-Ca⁺⁺-PL) und die sterisch optimale Anlagerung der Reaktionspartner auf der gleichen

Oberfläche beschleunigt die katalytischen Prozesse extrem und steigert die Thrombinbildung mehr als 300.000fach.

- Voraussetzung für die Ca⁺⁺-abhängige spezifische Bindung von Gerinnungsfaktoren an negativ geladene PL auf Zelloberflächen sind kalziumbindende Domänen der Gerinnungsfaktoren. Dies setzt negativ geladene Gruppen voraus, die für die Vitamin-K-abhängigen Faktoren (F II, F VII, F IX, F X) sowie die Gerinnungsinhibitoren (Protein C, Protein S) durch γ -Carboxylierung (Einführung einer COO⁻-Gruppe) endständiger Glutaminsäurereste, für andere Gerinnungsfaktoren durch posttranslationale Modifikationen erreicht werden. Unterbleibt die γ -Carboxylierung bei Vitamin-K-Mangel, werden funktionell defekte F II, F VII, F IX und F X synthetisiert (sog. PIVKA; proteins induced by vitamin K absence), und die Gerinnungsaktivierung ist gehemmt. Hierauf basiert die pharmakologische Hemmung der plasmatischen Hämostase durch orale Vitamin-K-Antagonisten.

Die Halbwertszeiten (HWZ) Vitamin-K-abhängiger Gerinnungsfaktoren (F VII 2-5 h, F IX 20-24 h, F X 32-48 h, F II 48-120 h) im Vergleich zu nicht Vitamin-K-abhängigen Faktoren (F V 15-36 h, F VIII 9-18 h, F XI 40-80 h, Fibrinogen [F I] 72-96 h und F XIII 12 Tage) sind klinisch relevant [19]. Änderungen der F VII-Aktivität zeigen demnach am empfindlichsten einen Vitamin-K-Effekt bzw. Antagonismus (bei oraler Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten) an. Für Protein C (PC) beträgt die HWZ 10 h, für aktiviertes PC (APC) <25 min.

Da die Gerinnungsfaktoren und ihre Inhibitoren (ebenso wie die Fibrinolysekomponenten und ihre Gegenspieler) in der Leber synthetisiert werden, ist die Bestimmung der Prothrombinzeit (nach Quick) ein sensibler Indikator der hepatozellulären Synthesekapazität – vorausgesetzt, dass kein Vitamin-K-Mangel vorliegt und keine Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten erfolgt.

Zur Differenzialdiagnose Synthesedefekt vs. Vitamin-K-Mangel eignet sich die Aktivitätsbestimmung nicht Vitamin-K-abhängiger Komponenten wie F V oder Antithrombin.

Neuere Modelluntersuchungen zeigen, dass eine Initiierung der Gerinnung über den *extrinsischen* Weg auch *ohne* Endothelschädigung erfolgen kann.

Zu dieser Aktivierung tragen sowohl Tissue Factor (TF) aus aktivierten Monozyten als auch thrombozytäre und monozytäre Mikropartikel (Abschnürungen von Zellmembranen; Größe dieser Membranfragmente $<1 \mu\text{m}$) bei [20]. Dies erklärt u.a. die Aktivierung des plasmatischen Hämostasesystems bei Bakteriämien und Sepsis. Diagnostisch lässt sich mittels Durchflusszytometrie ein erhöhter Gehalt an Thrombozyten-Leukozyten (Monozyten)-Konjugaten im Blut nachweisen.

Der Faktor XII spielt für die Blutstillung keine Rolle.

Ein F XII-Mangel verlängert zwar deutlich die aPTT, führt aber nicht zu Blutungen. Im Knockout-Modell der Maus (F XII^{-/-}) konnte jedoch ein schwerer Defekt der arteriellen Thrombusbildung gezeigt werden, so dass eine F XII-vermittelte Fibrinbildung essenziell für die Thrombusstabilisierung sein dürfte [21]. Damit wäre F XII eine ideale pharmakologische Zielstruktur, um die arterielle Thrombogenese selektiv – ohne Beeinträchtigung der physiologischen Blutstillung – zu blockieren. Bei allen bislang verfügbaren Antithrombotika, ob mit antikoagulatorischer oder antithrombotischer Wirkung, wird die antithrombotische Potenz um den Preis erhöhter Blutungsraten und komplikationen erkauft [22]. Dieses Dilemma wäre über eine selektive F XII-Blockade zu lösen [23]. Ob F XII-Mangel beim Menschen vor arteriellen Thromboembolien tatsächlich schützt, wird gegenwärtig untersucht.

Fibrinolyse

Parallel zur Bildung eines Fibringerinnsels bzw. Fibrinnetzwerks, das ein Thrombozytenaggregat gegenüber der Blutströmung stabilisiert, wird zeitversetzt der Abbau des entstandenen Fibrins initiiert.

Entscheidend für die Kinetik der physiologischen Fibrinolyse ist ihr verzögerter Beginn [17]. Der durch verschiedene Agonisten – u.a. Thrombin – aus Endothelzellen freigesetzte tissue-type-Plasminogen-Aktivator (t-PA) bindet gemeinsam mit Plasminogen an das entstandene Fibrin, wodurch eine fibrinabhängige Proteolyse erreicht wird. In der Folge katalysiert dieser lokal geformte Multi-komponenten-Enzymkomplex aus t-PA (Enzym), Plasminogen (Substrat) und Fibrin (Kofaktor) die Bildung von Plasmin, dem Schlüsselenzym der Fibrinolyse.

Plasmin spaltet Fibrin an definierten Molekülabschnitten; es entstehen Fibrinfragmente bzw. Fibrinospaltprodukte (FSP), die ihrerseits profibrinolytisch wirken und die Polymerisation von Fibrin durch F XIII hemmen. Typische plasmininduzierte Degradationsprodukte sind die D-Dimere (Abb. 5), mit weiterer Gerinnselauflösung auch quervernetzte D-Dimere. Sie dienen diagnostisch als empfindlicher Indikator einer Thrombusbildung, sind aber nicht thrombose-

spezifisch, sondern postoperativ und bei einer Vielzahl klinischer Zustände und Erkrankungen (Blutung, Trauma, Tumorkrankheit, Entzündung, Schwangerschaft) erhöht.

Die Bestimmung der D-Dimere eignet sich weniger für den Nachweis als vielmehr für den Ausschluss venöser Thromboembolien; das sensitive Verfahren hat einen hohen negativen prädiktiven Wert [24].

Plasmininduzierte Fibrinfragmente besitzen C-terminale Lysinreste, die über Wechselwirkungen der Lysinbindungsstellen von Plasminogen und t-PA die Interaktion des Multienzymkomplexes mit dem Gerinnsel verstärken und so zur Amplifikation und Propagierung der Fibrinolyse führen [17]. Unter physiologischen Bedingungen bleibt die Plasminbildung aber lokal begrenzt, da eine effektive Plasminogenaktivierung durch t-PA nur nach Bindung an Fibrin erreicht wird. Eine systemische Plasminämie wird außerdem durch weitere regulatorische Mechanismen und Gegenspieler verhindert. Hierzu zählen TAFI (Thrombin-aktivierbarer Fibrinolyse-Inhibitor), PAI-1 (Plasminogen-Aktivator-Inhibitor) und α_2 -Antiplasmin mit Bildung von Plasmin-Antiplasmin (PAP)-Komplexen.

Abbildung 5

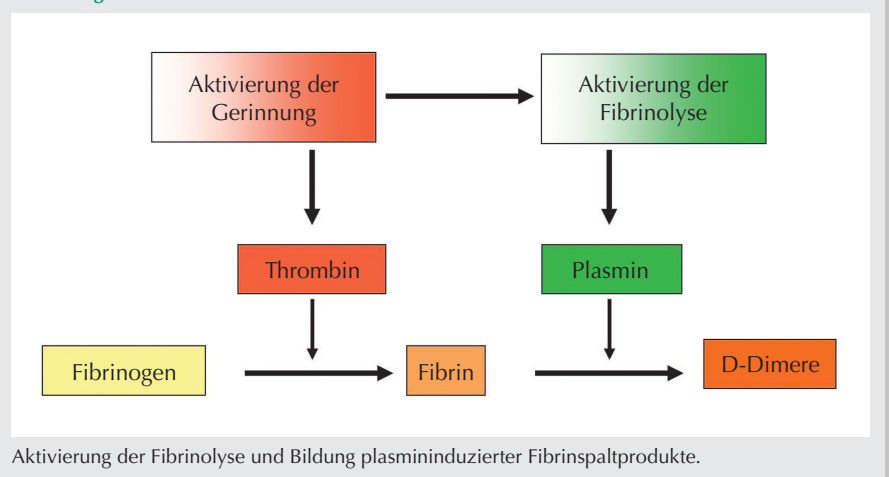


Tabelle 1

Stadien und Befundkonstellationen bei disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC). Diese Phasen können mit unterschiedlicher Dynamik ablaufen.

Stufe	Laborbefunde
Stadium I Hyperkoagulabilität	Abfall der Thrombozyten, Verkürzung von aPTT und TZ
Stadium II Phase der DIC	Weiterer Abfall der Thrombozyten, aPTT und TZ normal bis verlängert, Abfall von Quick-Wert und Einzelfaktoren, FSP nachweisbar
Stadium III Plasminämie	aPTT und TZ deutlich verlängert, weiterer Abfall von Quick-Wert und Einzelfaktoren (insbesondere von Fibrinogen), FSP deutlich erhöht
Stadium IV Dekompensation	Massive Thrombozytopenie, Hypofibrinogenämie, Quick-Wert und Einzelfaktoren drastisch vermindert, aPTT und TZ nicht messbar

aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit; FSP = Fibrin- und Fibrinogen-Spaltprodukte; TZ = Thrombinzeit.

Pathologisch gesteigerte Fibrinolyse führen zur Degradation von Fibrinogen mit ausgeprägter Hypofibrinogenämie und deutlichem Anstieg plasmininduzierter Fibrinogen-Spaltprodukte.

- **Primäre Hyperfibrinolyse** – infolge massiver Freisetzung von Plasminogen-Aktivatoren ohne vorausgehende Hämostaseaktivierung und Thrombinbildung – sind selten und treten vorwiegend als postpartale oder perioperative Komplikationen auf. Beispiele sind die atonische Nachblutung und das Prostatakarzinom mit Freisetzung von Plasminogen-Aktivatoren vom Urokinasetyp (u-PA), aber auch eine Paraneoplasie bei Promyelozytenleukämie.
- **Sekundäre Hyperfibrinolyse** werden in etlichen klinischen Situationen reaktiv – bei initial überschießender oder persistierender Aktivierung der Hämostase (Polytrauma, Sepsis usw.) – ausgelöst, z.B. die reaktive Hyperfibrinolyse in der Phase der Plasminämie beim Syndrom der disseminierten intravasalen Gerinnung („disseminated intravascular coagulation“; DIC; siehe Tabelle 1).
- Mangelzustände an Plasminogen oder t-PA und genetische Varianten dieser Komponenten – z.B. in ihren Lysinbindungsstellen – können zur Hypofibrinolyse führen und dadurch eine Thromboseneigung begünstigen.

Kontrolle von Hämostase und Fibrinolyse

Hämostase und Fibrinolyse werden durch negative Feedback-Mechanismen reguliert.

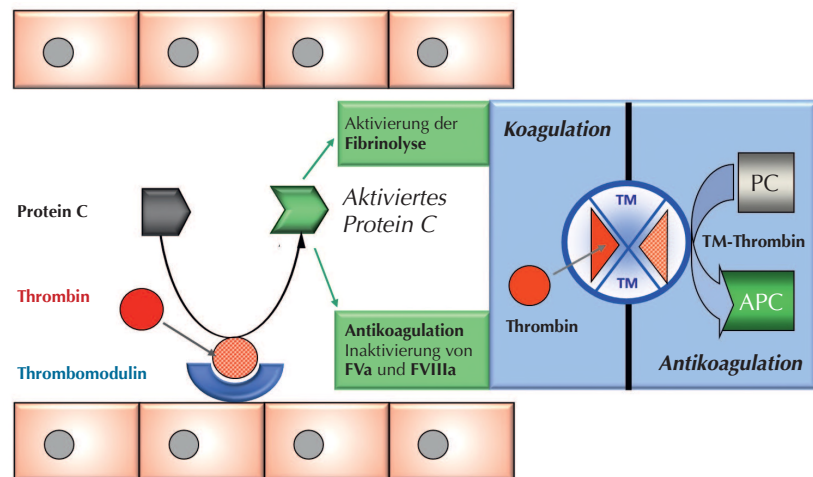
Thrombin nimmt im Hämostasesystem eine zentrale Rolle ein als

- Schlüsselenzym der Gerinnungsbildung (Umwandlung löslichen Fibrinogens in unlösliches Fibrin),

- Stimulator der genannten Amplifikationsmechanismen,
- einziger Gerinnungsfaktor, der Thrombozyten aktiviert und
- Induktor der Fibrinolyse.

Der Organismus verfügt über mehrere Mechanismen, um die Thrombinbildung zu steuern, lokal zu limitieren und den Thrombin-„Burst“ einzudämmen. Gegenspieler von Thrombin ist zunächst Antithrombin (AT; früher AT III). Durch Bildung von Thrombin-Antithrombin (TAT)-Komplexen wird lösliches, gerinnungsaktives Thrombin inhibiert. Die AT-vermittelte Hemmung reicht aber nicht aus. Um Thrombin zu eliminieren, seine prokoagulatorischen Effekte „abzuschalten“ und nach erfolgter Blutstillung das hämostatische Gleichgewicht wiederherzustellen, hat die Natur mit dem Thrombomodulin- und Protein C-System wirksame Mechanismen entwickelt. Sie bedingen eine Produkthemmung der Thrombinbildung und initiieren eine intrinsische Antikoagulation.

- **Thrombomodulin (TM)** ist ein endothelialer Rezeptor, der mit hoher Affinität freies gerinnungsaktives Thrombin bindet, womit Thrombin seine prokoagulatorische Wirkung

Abbildung 6

Thrombomodulin (TM)- und Protein C (PC)-System. Der TM-Rezeptor wirkt wie ein Schalter, der bei Bindung von Thrombin dessen Substratspezifität ändert: das Prokoagulans induziert über Aktivierung von PC einen intrinsischen Antikoagulationsmechanismus. TM fungiert wie eine Drehtür für Thrombin (Inset). APC = aktiviertes Protein C; F = Faktor.

verliert. Zugleich katalysiert der entstandene Thrombin-Thrombomodulin-Komplex die Umwandlung von zirkulierendem (inaktiven) Protein C in aktiviertes Protein C (APC). Durch Bindung an TM erlangt Thrombin damit eine neue Substratspezifität bzw. Wirkungsqualität, indem über APC ein gegenläufiger, nun gerinnungshemmender Mechanismus in Gang gesetzt wird (Abb. 6).

- Das **Protein C-System** basiert auf der regulierten Aktivierung von Serinproteasen. Nach Umwandlung von Protein C in APC hemmt APC in Gegenwart seines Kofaktors Protein S die aktivierten Gerinnungsfaktoren V (F Va) und VIII (F VIIIa), womit APC wie ein intrinsisches Antikoagulum wirkt. Hierbei werden die F Va und F VIIIa durch spezifische Proteolyse inaktiviert. F Va wird u.a. durch Spaltung an Arg506 und Arg 306 degradiert. Punktmutationen an diesen Positionen verzögern den Abbau von F Va und damit seine Inaktivierung, was einen prothrombotischen Zustand induziert.

Literatur

- Koscielny J, Ziemer S, Radtke H, Schmutzler M, Pruss A, Sinha P, et al: A practical concept for preoperative identification of patients with impaired primary hemostasis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004;10:195-204
- Scharf RE: Thrombozyten und Mikrozirkulationsstörungen. Klinische und experimentelle Untersuchungen zum Sekretionsverhalten und Arachidonsäurestoffwechsel der Blutplättchen. Stuttgart: Schattauer;1986:133-145 und 192-212
- Riess H: Erworbene Koagulopathien. *Hämostaseologie* 2008;28:348-357
- Aarts PA, van den Broek SA, Prins GW, Kuiken GD, Sixma JJ, Heethaar RM: Blood platelets are concentrated near the wall and red blood cells, in the center in flowing blood. *Arteriosclerosis* 1988; 8:819-824
- Valeri CR, Cassidy G, Pivacek LE, Ragno G, Lieberthal W, Crowley JP, Khuri SF, Loscalzo J: Anemia-induced increase in the bleeding time: Implications for treatment of nonsurgical blood loss. *Transfusion* 2001;41:977-983
- Boccardo P, Remuzzi G, Galbusera M: Platelet dysfunction in renal failure. *Semin Thromb Hemost* 2004;30:578-589
- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL: Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res* 2007;100:1673-1685
- Scharf RE: Erworbene Plättchenfunktionsstörungen. Pathogenese, Klassifikation, Häufigkeit, Diagnostik und Behandlung. *Hämostaseologie* 2008;28:299-311
- Furlan M, Robles R, Galbusera M, Remuzzi G, Kyrle PA, Brenner B, et al: Von Willebrand factor-cleaving protease in thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 1998;339:1578-1584
- Vincetelli A, Susen S, Le Tourneau T, Six I, Fabre O, Juthier F, et al: Acquired von Willebrand syndrome in aortic stenosis. *N Engl J Med* 2003;349:343-349
- Schneppenheim R, Budde U: Angeborenes und erworbenes von-Willebrand-Syndrom. *Hämostaseologie* 2008;28: 312-319
- Ruggeri ZM: Platelet interactions with vessel wall components during thrombogenesis. *Blood Cell Mol Dis* 2006; 47:1903-1910
- Scharf RE, Zotz RB: Blood platelets and myocardial infarction: do hyperactive platelets really exist? *Transf Med Hemother* 2006;33:189-199
- Scharf RE: Acquired platelet function defects: an underestimated but frequent cause of bleeding complications in clinical practice. In: Scharf RE (ed) *Progress and Challenges in Transfusion Medicine, Hemostasis, and Hemotherapy*. Basel: Karger;2008:296-316
- Macfarlane RG: An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature* 1964;202:498-499
- Davie EW, Ratnoff OD: Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science* 1964;145:1310-1312
- Preissner KT: Physiologie der Blutgerinnung und Fibrinolyse: *Hämostaseologie* 2008;28:259-371
- Mann KG: Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thromb Haemost* 1999;82:164-174
- Edmunds LH, Salzman EW: Hemostatic problems, transfusion therapy, and cardiopulmonary bypass in patients. In: Colman RW et al (eds). *Hemostasis & Thrombosis*. Philadelphia: Lippincott; 1994:956-968
- Engelmann R, Luther T, Müller I: Intravascular tissue factor pathway: A model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel. *Thromb Haemost* 2003;89:3-8
- Müller F, Renné T: Novel roles for factor XII-driven plasma contact activation system. *Curr Opin Hematol* 2008;15: 516-521
- Scharf RE: Management of bleeding in patients using antithrombotic agents. Prediction, prevention, protection, and problem-oriented intervention. *Hämostaseologie* 2009;29:388-398
- Gailani D, Renné T: The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? *J Thromb Haemost* 2007;5:1106-1112
- Stein PD, Hull RD, Patel KC, Olson RE, Ghali WA, Brant R, Biel RK, Bharadia V, Kalra NK: D-dimer for the exclusion of acute venous thrombosis and pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 2004;140: 489-602.

Korrespondenz- adresse



**Prof. Dr. med.
Rüdiger E. Scharf,
F.A.H.A.**

Institut für Hämostaseologie, Hämo-
therapie und Transfusionsmedizin
Universitätsklinikum Düsseldorf
Moorenstraße 5
40225 Düsseldorf, Deutschland
Tel.: 0211 811-7344
E-Mail:
ScharfRu@med.uni-duesseldorf.de