



Aus der Abteilung für Hämatologie/Onkologie der
**MEDIZINISCHEN HOCHSCHULE
HANNOVER**

**Bedeutung der hereditären Thrombophilie
für Klinik und
Hämostasesystem gesunder
Thrombozytenspender**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin in
der Medizinischen Hochschule Hannover.

Vorgelegt von Niels Brüggemann
aus Osnabrück.

Hannover, 2003

Angenommen vom Senat der Medizinischen Hochschule Hannover
am 16.12.2003

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Hochschule Hannover

Rektor : Professor Dr. Horst v. der Hardt

Betreuer : Prof. Dr. Arnold Ganser

Referent : Prof. Dr. Rainer Blasczyk

Korreferent : Priv. Doz. Dr. Karl- Walter Sykora

Tag der mündlichen Prüfung: 16.12.2003

Promotionsausschussmitglieder:

Prof. Dr. Karl Welte

Prof. Dr. Dietrich Peest

Prof.'in Dr. Sylvia Glüer

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG.....	10
1.1 Fragestellung und Begründung der Arbeit	10
2. MATERIAL UND METHODEN	16
2.1 Studiendesign/Zielsetzung	16
2.2 Ein- und Ausschlusskriterien.....	19
2.2.1 Probengewinnung	20
2.3 Das Apheresesystem	21
2.3.1 Systembeschreibung.....	21
2.3.2 Antikoagulation	25
2.4 Verwendete Tests und Materialien.....	26
2.4.1 Gerinnungsanalysen	26
2.4.1.1 aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)	26
2.4.1.2 Quick-Test (Thromboplastinzeit).....	26
2.4.1.3 Fibrinogen nach Clauss.....	27
2.4.1.4 Faktor II Aktivität.....	28
2.4.1.5 Faktor V Aktivität	29
2.4.1.6 Faktor VIII Aktivität	31
2.4.1.7 Faktor XII Aktivität	32
2.4.1.8 Antithrombin Aktivität.....	33
2.4.1.9 APC- Resistenz (Faktor Q:506-Mutation)	35
2.4.1.10 Human-Thrombin/Antithrombin-Komplex (TAT)	35
2.4.1.11 D-Dimere.....	36
2.4.1.12 Freies Protein S (Elisa).....	38
2.4.1.13 Protein C Aktivität (chromogenes Substrat).....	39
2.4.1.14 Verwendetes Standard-Human-Plasma	41
2.4.1.15 Verwendetes Kontroll-Plasma N (normal)	41
2.4.2 Genanalysen.....	42
2.4.2.1 Prothrombin (20210 G->A) Mutation	42
2.4.2.2 Faktor V:Q506 Mutation	44
2.4.2.3 MTHFR- Mutation.....	44

2.4.3 Datenerhebung und Statistische Auswertung	46
2.4.3.1 Datenerhebung.....	46
2.4.3.2 Prävalenz der Risikofaktoren und Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors.....	46
2.4.3.3 Laborwertevergleich	47
3. ERGEBNISSE.....	48
3.1 Gesamtkollektiv.....	48
3.2 Kollektiv Befragte	49
3.3 Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors	52
3.3.1 A: Familienanamnese bei Spendern mit mindestens einem Risikofaktor	52
3.3.1.1 Analyse nach Altersklassen.....	53
3.3.2 B: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-Mutation	54
3.3.2.1 Analyse nach Altersklassen.....	55
3.3.3 C: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A- Mutation	55
3.3.3.1 Analyse nach Altersklassen.....	56
3.3.4 D: Familienanamnese bei Spendern mit homozygoter MTHFR 677TT- Variante.....	57
3.3.4.1 Analyse nach Altersklassen.....	57
3.3.5 E: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation	58
3.3.5.1 Analyse nach Altersklassen.....	59
3.4 Kollektiv Thrombozytapherese.....	61
3.5 Untersuchung zur Auswirkung der Risikofaktoren auf das Gerinnungssystem von Thrombozytenspendern vor und nach der Apherese	64
3.5.1 Die Laborwerte vor und nach der Apherese.....	64
3.5.2 Vergleich der Laborparameter zwischen den Gruppen vor bzw. nach der Apherese.....	73

3.5.3 Vergleich der Laborparameter innerhalb der einzelnen Gruppen vor und nach Apherese.....	74
3.5.4 Vergleich der Veränderung der Laborwerte vor versus nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Veränderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe.....	76
Thrombin/Antithrombin-Komplex und Fibrinogen bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation.....	77
Faktor V Aktivität bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506 Mutation	78
4. DISKUSSION	80
4.1 Gesamtkollektiv.....	80
4.2 Kollektiv Befragte	81
4.3 Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors	81
4.3.1 A :Familienanamnese bei Spendern mit mindestens einem genetischen Risikofaktor	82
4.3.2 B. Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-Mutation	82
4.3.3 C. Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation	83
4.3.4 D. Spender mit homozygoter MTHFR 677TT-Variante	83
4.3.5 E. Spender mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation	83
4.3.6 Zusammenfassung zum Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors...	84
4.4 Untersuchung der Auswirkung der genetischen Variationen auf das Gerinnungssystem der Thrombozytenspender während der Apherese	85
4.4.1 Die Laborwerte vor und nach der Apherese.....	85
4.4.2 Vergleich der Änderungen der Laborparameter innerhalb der einzelnen Gruppen vor und nach der Apherese	86
4.4.3 Vergleich der Änderung der Laborwerte vor und nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Änderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe.....	88
4.4.4 Thrombin/Antithrombin-Komplexe und Fibrinogen bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation	88

4.4.5 Faktor V Aktivität bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-Mutation	90
4.5 Konsequenzen für die Auswahl der Thrombozytenspender	91
4.5.1 Ausschluß aufgrund der Familienanamnese?	91
4.5.2 Ausschluß aufgrund der gemessenen Laborveränderungen?	94
4.5.3 Beurteilung der Ausschlusskriterien	95
5. ZUSAMMENFASSUNG	97
6. LITERATURVERZEICHNIS	98
7. ANHANG	111
7.1 Erhebungsbogen Eigen- und Familienanamnese:	111
7.2 Muster der Einwilligungserklärung	113
7.3 Laborwerte- und Epidemiologietabellen	114
7.4 Legende zur Auswertungstabelle:	131
8. DANKSAGUNG	132
9. LEBENS LAUF	133
10.ERKLÄRUNG NACH §2 ABS.2 NRN.6 UND 7	135

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Cobe Spektra Apheresesystem (Erläuterungen im Text)	21
Abbildung 2: Einwegset zur Thrombozytenapherese (Legende s.u.)	23
Abbildung 3: Prinzip der Messung der Faktor VIII Aktivität mittels chromogenem Substrat.	32
Abbildung 4: Prinzip der Messung der Antithrombin-Aktivität mittels chromogenem Substrat.	34
Abbildung 5: Reaktionsschema der Protein C-Bestimmung	40
Abbildung 6 : Testprinzip der Genanalysen.....	43
Abbildung 7: Organigramm „Gesamtkollektiv und Kollektiv Befragte“ (Erläuterungen im Text).....	48
Abbildung 8 : Organigramm Kollektiv Thrombozytapherese	61
Abbildung 9 : TAT in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten PT G20210A-Mutation.	77
Abbildung 10 : Fibrinogen in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten PT G20210A-Mutation.....	78
Abbildung 11: Faktor V Aktivität in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten FV:Q506-Mutation.	79

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Referenzbereiche	19
Tabelle 2: Prävalenz der „Dropouts“ und der Risikofaktoren des Gesamtkollektivs	49
Tabelle 3 : Prävalenz der Risikofaktoren des Kollektivs Befragte	50
Tabelle 4: Altersverteilung im Kollektiv Befragte	51
Tabelle 5: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein mindestens eines Risikofaktors	53
Tabelle 6: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <60 Jahre in Abhängigkeit vom Vorhandensein mindestens eines Risikofaktors	54
Tabelle 7: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins einer FV:Q506-Mutation	54
Tabelle 8: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins einer FV:Q506-Mutation	55
Tabelle 9: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der PT G20210A-Mutation	56
Tabelle 10: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der PT G20210A-Mutation	57
Tabelle 11: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der MTHFR 677TT-Variante	57
Tabelle 12: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <65 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der MTHFR 677TT-Variante	58
Tabelle 13: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der FV:Q506-Mutation und/oder PT G20210A-Mutation	59
Tabelle 14: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der FV:Q506- und/oder PT G20210A-Mutation	60
Tabelle 15: Aufteilung der genetisch auffälligen Spender im Spenderkollektiv Thrombozytapherese (n=48) nach vorliegender genetischer Variante	62
Tabelle 16: Altersverteilung im Spenderkollektiv Thrombozytapherese	63
Tabelle 17: Laborwerte der genetisch auffälligen TK-Spender vor der Apherese	64

Tabelle 18: Laborwerte der Spender mit heterozygoter FV:Q506- Mutation vor der Apherese.....	65
Tabelle 19: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- Mutation vor der Apherese.....	66
Tabelle 20: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- und/oder heterozygoter FV:Q506- Mutation vor der Apherese.....	67
Tabelle 21: Laborwerte der Spender mit homozygoter MTHFR C677T- Mutation vor der Apherese	68
Tabelle 22: Laborwerte der Kontrollgruppe vor der Apherese.....	69
Tabelle 23 : Laborwerte der genetisch auffälligen TK-Spender nach der Apherese.....	70
Tabelle 24: Laborwerte der Spender mit heterozygoter FV:Q506- Mutation nach der Apherese	70
Tabelle 25: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- Mutation nach der Apherese	71
Tabelle 26: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- und/oder FV:Q506- Mutation nach der Apherese.....	71
Tabelle 27: Laborwerte der Spender mit homozygote MTHFR C677T- Mutation nach der Apherese	72
Tabelle 28: Laborwerte der Kontrollgruppe nach der Apherese	72
Tabelle 29: P-Werte zu den Vergleichen der einzelnen Gruppen mit der Kontrollgruppe vor der Apherese	73
Tabelle 30: P-Werte zu den Vergleichen der einzelnen Gruppen mit der Kontrollgruppe nach der Apherese.....	74
Tabelle 31: P-Werte zu den Vergleichen der Laborparameter vor- nach Apherese innerhalb der Gesamt- und Untergruppen	75
Tabelle 32: Vergleich der Veränderung der Laborparameter vor- nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Veränderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe (P- Werte):.....	76
Tabelle 33: Labor vor und nach der Apherese bei 48 Thrombozytenspendern	114
Tabelle 34: Labor 308 Blut- und Thrombozytenspender/innen.....	119
Tabelle 35: Familienanamnese 206 Spender/innen	126

1. Einleitung

1.1 Fragestellung und Begründung der Arbeit

In den letzten Jahren konnten zahlreiche neue, genetische Risikofaktoren für das Auftreten von venösen sowie arteriellen Thrombembolien identifiziert werden. Dazu zählen z.B. die Prothrombin (PT) G20210A-Mutation, die Faktor V:Q506-Mutation (FV:Q506- bzw. FV Leiden-Mutation) sowie die Methyltetrahydrofolatreduktase (MTHFR) C677T-Variante.

Für die FV:Q506-Mutation ist die prothrombotische Wirkung inzwischen akzeptiert. Insbesondere ihre Bedeutung als unabhängiger Risikofaktor für venöse Thrombosen ist allgemein anerkannt: Dahlbäck et al.¹ beschreiben das mehrfach erhöhte Risiko für venöse Thrombosen der durch die FV:Q506-Mutation verursachten APC-Resistenz. So findet sich je nach untersuchter Kohorte bei 20%-60% der Patienten mit venöser Thrombose die FV:Q506-Mutation. Dahlbäck et al. vermuteten auch schon früh die Erhöhung des Risikos für venöse Thrombosen durch zusätzliche Faktoren wie orale Kontrazeptiva, andere Gendefekte, Immobilisation u.a..² Nachfolgende Arbeiten von Bertina et al. und weiteren Autoren konnten diese These festigen.^{3-7 8-17}

Demgegenüber wird die Bedeutung der FV:Q506-Mutation für arterielle Thrombosen noch kontrovers diskutiert. Eskandari et al.¹⁸ beschreiben eine Assoziation von FV:Q506-Mutation und unerwarteten arteriellen thrombembolischen Ereignissen wie Myokardinfarkt oder cerebraler Ischämie bei jungen Patienten (Altersmittelwert 44,1 Jahre) ohne bestehende Arteriosklerose. Diese Ergebnisse werden auch durch Untersuchungen von De Lucia et al.¹⁹ gestützt, die unter jüngeren Patienten mit transitorisch-ischämischen Attacken (TIA) ein signifikant höheres Vorkommen der FV:Q506-Mutation nachweisen konnten.

Rosendaal et al.²⁰ konnten schon vor einigen Jahren zeigen, dass sich bei Frauen mit Myokardinfarkt ein deutlich höherer Anteil an heterozygoten Trägerinnen der FV:Q506-Mutation finden lässt als in der Kontrollgruppe, so dass

für diese Frauen ein etwa 4fach erhöhtes Risiko besteht, einen Myokardinfarkt zu erleiden. Weiter konnten die Autoren zeigen, dass das Thrombembolierisiko der FV:Q506-Mutation durch zusätzliche Risikofaktoren deutlich zunimmt. So erhöht sich das Risiko auf das 32fache, wenn die heterozygote Trägerin Raucherin ist. Katz et al.²¹ beschreiben, dass auch andere vaskuläre Ereignisse wie Mesenterialarterienthrombosen mit der FV:Q506-Mutation in Zusammenhang gebracht werden können.

Auch andere Ereignisse, wie Fehlgeburten in der Spätschwangerschaft, scheinen mit der FV:Q506-Mutation assoziiert zu sein²².

Auch die Ergebnisse weiterer Studien machen die Bedeutung der FV:Q506-Mutation als unabhängigen Risikofaktor für thrombembolische Ereignisse deutlich. Allerdings besitzt der Defekt, wenn er in heterozygoter Ausprägung vorliegt, insbesondere dann klinische Relevanz, wenn exogene Risikofaktoren wie Rauchen, Übergewicht, Bettlägerigkeit oder andere genetische Risikoparameter der Thrombophilie hinzukommen²³.

Auch für die PT G20210A-Mutation ist eine thrombembolische Auswirkung gesichert. Insbesondere scheinen sich venöse Thrombosen bei heterozygoten Trägern deutlich häufiger zu ereignen als bei unauffälligen Personen.^{16,24} Speziell kommen auch Thrombosen bei PT G20210A heterozygoten Kindern und Jugendlichen signifikant häufiger vor. So finden Junker et al.²⁵ bei Kindern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation ein deutlich erhöhtes Risiko für venöse Thrombosen. Ob dies auch für andere Ereignisse, wie z.B. arterielle Thrombosen, cerebrale Ischämien usw. zutrifft, wird zur Zeit noch diskutiert. Arruda et al.²⁶ können die PT G20210A-Mutation als Risikofaktor für venöse Thrombosen bestätigen und postulieren ebenfalls einen deutlichen Einfluss auf die Entstehung arterieller Thrombosen.

De Stefano et al.²⁷ untersuchten 75 Patienten mit cerebraler Ischämie und verglichen diese mit 198 thrombosefreien Personen. In der „Ischämie-Gruppe“ fanden sich signifikant mehr Personen mit heterozygoter PT G20210A-Mutation, so dass davon ausgegangen werden muss, dass bei heterozygoten Trägern ein

deutlich erhöhtes Risiko für cerebrale Ischämien besteht. Im Gegensatz dazu konnten Ridker et al.²⁸ in einer großen Kohortenstudie (n=14916 insgesamt, 833 heterozygote für PT G20210A-Mutation) keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten der heterozygoten Mutation und cerebrovaskulärem Insult oder Myokardinfarkt nachweisen.

Ähnlich wie schon bei der FV:Q506-Mutation wird von vielen Autoren auch für die PT G20210A-Mutation eine deutlich stärkere Symptomatik der heterozygoten Mutation beschrieben, wenn zusätzliche genetische oder erworbene Risikofaktoren für Thrombosen gleichzeitig bestehen. Makris et al.²⁹ verglichen beispielsweise 101 Personen, welche zusätzlich zur heterozygoten PT G20210A-Mutation weitere Risikofaktoren wie FV:Q506, Antithrombin Mangel etc. hatten, mit einer Kontrollgruppe von 150 Personen, die ausschließlich Träger der heterozygoten PT G20210A-Mutation waren. Hier fand sich eine signifikant stärkere Thromboseneigung als bei den Personen, die ausschließlich heterozygot für die PT G20210A-Mutation waren.

Für die MTHFR C677T-Variante ist die Bedeutung als Risikofaktor für thrombembolische Ereignisse nach wie vor stark umstritten. Arruda et al.³⁰ untersuchten eine Gruppe von Patienten mit arterieller Verschlusskrankheit (n=191, Risikofaktoren wie Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und Hypertonus ausgeschlossen) sowie eine Gruppe von Patienten mit venösen Thrombosen (n=127, Patienten mit anderen angeborenen Ursachen für Thrombophilie ausgeschlossen) und verglichen diese Gruppen jeweils mit einer gesunden, „not matched“ Kontrollgruppe. In beiden „Ereignisgruppen“ waren signifikant mehr Personen mit homozygoter MTHFR C677T-Variante zu finden. Nach dieser Studie ist das Risiko von homozygoten Trägern, eine venöse Thrombose zu erleiden, um das 2,6fache erhöht, das Risiko an einer arteriellen Verschlusskrankheit zu erkranken, ist sogar um das 5,5fache erhöht.

Margaglione et al.³¹ können zwar diese Ergebnisse nicht ganz bestätigen, finden aber in der homozygoten MTHFR C677T-Variante einen unabhängigen Risikofaktor für venöse Thrombosen, welcher das Risiko, eine venöse Thrombose

zu entwickeln und den Faktor 1,7 erhöht. Bei Personen mit zusätzlichem angeborenem oder erworbenem Risikofaktor erhöht sich das Risiko auf das 2fache (n=277 Patienten mit venöser Thrombose vs. 431 gesunde Kontrollen).

Einen Zusammenhang von homozygoter MTHFR 677TT-Variante und venösen Thrombosen in der Schwangerschaft sowie der postpartalen Periode finden Grandone et al.³² In dieser Studie wurden 42 Patientinnen mit venösen Thrombosen mit einer Alters-adaptierten Kontrollgruppe (n=213) verglichen. In der Patientengruppe war die homozygote MTHFR 677TT-Variante 2,1mal häufiger als in der Kontrollgruppe.

Über eine Assoziation von Retinalvenenthrombosen und homozygoter MTHFR 677TT-Variante berichten Loewenstein et al.³³ In einer Gruppe von 59 untersuchten Patienten mit diagnostizierter Retinalvenenthrombose fand sich bei 18,6% der Patienten eine homozygote MTHFR 677TT-Variante. Verglichen mit dem Bevölkerungsdurchschnitt an homozygoten Trägern (10,4%) ist dies signifikant ($p=0.038$) häufiger.

Manche Autoren finden bei Prädisposition für eine Thrombophilie eine Risikoerhöhung durch die MTHFR C677T-Variante. Cattaneo et al.³⁴ beschreiben ein erhöhtes Risiko für tiefe Venenthrombosen bei der Koexistenz von homozygoter MTHFR 677TT-Variante und heterozygoter FV:Q506 Mutation. Die Arbeitsgruppe untersuchte die Prävalenz von homozygoter MTHFR 677TT-Variante und FV:Q506-Mutation in einer Gruppe von 77 Patienten mit tiefer Beinvenenthrombose sowie einer Alters- und Geschlechts-adaptierten Kontrollgruppe (n=154). In der Patientengruppe fand sich eine signifikant höhere Koexistenz beider Mutationen während die homozygote MTHFR 677TT-Variante in beiden Gruppen etwa gleich verteilt war.

Ein großer Teil der Autoren widerspricht diesen Ergebnissen. So finden Brown et al.³⁵ keinerlei Effekt der heterozygoten oder homozygoten MTHFR C677T-Variante auf die Neigung zu venösen Thrombosen in einem Kollektiv von Patienten mit venösen Thrombosen (n=558 Patienten und 500 Kontrollen). Auch

scheint die MTHFR C677T-Variante keine Risikoerhöhung bei der Koexistenz mit anderen Risikofaktoren zu bewirken.

Zu dem gleichen Ergebnis kommen auch Rintelen et al.,³⁶ die 81 Patienten mit heterozygoter FV:Q506-Mutation und thrombembolischen Episoden in der Familienanamnese auf die Prävalenz der heterozygoten MTHFR C677T-Variante hin untersuchten und die Ergebnisse anschließend mit der entsprechenden Prävalenz in einer 77 Personen umfassenden Kontrollgruppe verglichen, ohne dass sich hier signifikante Unterschiede finden ließen.

Franco et al.³⁷ finden keine Auswirkung der MTHFR C677T-Variante auf die Prävalenz von tiefen Venenthrombosen. Sie verglichen die Prävalenz der homozygoten MTHFR 677TT-Variante bei 190 Patienten mit tiefen Venenthrombosen mit der einer Kontrollgruppe (Alters-, Geschlechts- und ethnisch adaptiert) und konnten diesbezüglich keinerlei signifikante Unterschiede finden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sowohl für die FV:Q506-Mutation als auch für die PT G20210A-Mutation eine thrombembolische Wirkung gesichert ist, während diese Wirkung bei der MTHFR C677T-Variante noch kontrovers diskutiert wird.

Den meisten Arbeiten gemeinsam ist, dass für nahezu alle Mutationen eine Verstärkung ihrer prothrombotischen Wirkung durch zusätzliche Risikofaktoren postuliert wird. Dies scheint sowohl bei erworbenen Risikofaktoren (Bettlägerigkeit, Rauchen, etc.) als auch bei angeborenen zusätzlichen Risikofaktoren (Koexistenz) der Fall zu sein.

Bisher ist zwar die Prävalenz für die oben genannten Risikofaktoren in der Normalbevölkerung weitgehend untersucht, über die Auswirkung dieser genetischen Faktoren auf das Vorkommen von thrombembolischen Episoden in den Familienanamnesen von augenscheinlich gesunden und präselektierten Blut- und Thrombozytenspendern ist bisher wenig bekannt. Insbesondere über die

Auswirkung der Apherese auf das Gerinnungssystem von Trägern einer der genetischen Variationen sind bisher keine Daten vorhanden.

Die Zielsetzung in dieser Studie soll daher sowohl die Untersuchung der Prävalenz oben genannter Risikofaktoren im normalen Blut- und Thrombozytenspenderpool, als auch deren Auswirkungen auf die Familienanamnesen und das Gerinnungssystem der betroffenen Spender sein:

Bei der Thrombozyten-Apherese wird das Spenderblut zunächst in dem Thrombozytenseparator zentrifugiert und die verbleibenden Erythrozyten anschließend in der Regel wieder retransfundiert. Da es dabei immer zu massivem Kontakt des Spenderblutes mit Fremdoberflächen (Zentrifuge) kommt, ist die Auswirkung der Apherese auf das Gerinnungssystem der für thrombembolische Ereignisse prädisponierten Träger einer oder mehrerer der genannten genetischen Variationen von besonderem Interesse und soll an einer selektierten Gruppe von Thrombozytenspendern untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign/Zielsetzung

1. Untersuchung der Prävalenz von FV:Q506-Mutation, PT G20210A-Mutation und der MTHFR C677T-Variante im Blutspenderpool der MHH

Dazu wurden von uns konsekutiv 308 Blut- und Thrombozytenspender/innen auf die entsprechenden genetischen Variationen, sowie auf andere Ursachen einer Thrombophilie hin untersucht (Ein- und Ausschlusskriterien) und so die Prävalenz im **Gesamtkollektiv** sowie in den Untergruppen (siehe dort) ermittelt.

2. Auffälligkeiten in der Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein einer der genetischen Variationen

Zur Ermittlung des Genstatus eines Spenders sind aufwendige, kostenintensive und zeitraubende Untersuchungen nötig. Es soll daher untersucht werden, ob über die Familienanamnese allein, genetisch auffällige Spender mit hoher Zuverlässigkeit gefunden werden können bzw. ob Spender mit Gendefekt über eine auffällige Familienanamnese mit ausreichender Sicherheit identifiziert werden können.

Zunächst wurden alle Spender/innen mit anderen Ursachen für eine hyperkoagulatorische Gerinnungssituation (PS-, PC-, AT-Mangel, FII-, Fibrinogenerhöhung) aus der Studie ausgeschlossen.

Die verbleibenden Spender/innen wurden anhand eines standardisierten Fragebogens (siehe Anhang „Fragebogen“) zu ihrer Familienanamnese befragt (**Kollektiv Befragte**). In diesem doppelblinden Interview wurden vor allem Daten zu thrombembolischen Ereignissen in der Eigen- und Familienanamnese (Thrombose, Schlaganfall, Herzinfarkt oder Lungenembolie) sowie das Alter der jeweiligen, betroffenen Familienangehörigen erhoben.

Um festzustellen, ob die einzelnen genetischen Variationen unterschiedlich eng mit einer positiven Familienanamnese korrelieren, wurden die Spender in

verschiedene Untergruppen unterteilt und jeweils mit der genetisch unauffälligen Kontrollgruppe verglichen:

- A. Spender mit mindestens einem genetischen Risikofaktor
- B. Spender mit heterozygoter FV:Q506-Mutation
- C. Spender mit heterozygoter PT G20210A-Mutation
- D. Spender mit homozygoter MTHFR C677T-Variante
- E. Spender mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation

Da hereditäre Risikofaktoren der Thrombembolie primär zu juveniler Thrombophilie prädisponieren, wird der Einfluß des Erstmanifestationsalters durch Bildung von Altersklassen untersucht, d.h. sowohl allgemein als auch in den jeweiligen Untergruppen wird danach unterschieden, wie alt die Verwandten eines Spenders zum Zeitpunkt der Manifestation eines thrombembolischen Ereignisses waren. Dadurch werden die Untergruppen nochmals verkleinert: Spender mit thrombembolischer Erstmanifestation vor dem 65., 60., 55., bzw. 50. Lebensjahr.

Ziel ist es, herauszufinden, ob und in welcher Gruppe/Altersklasse eine hohe Übereinstimmung zwischen dem Auftreten einer genetischen Variation/Risikofaktor und einer positive Familienanamnese gefunden werden kann, ohne zu viele falsch positive (keine genetische Variation, positive Familienanamnese) und falsch negative (genetische Variation, negative Familienanamnese) Spender miteinzuschließen.

3. Untersuchung der Auswirkung der genetischen Variationen, auf das Gerinnungssystem der Spender während der Apherese

Aufgrund des massiven Kontaktes des Spenderblutes mit Fremdoberflächen (Zentrifuge, s.u.) während der Apherese, sind insbesondere die Auswirkungen auf das Gerinnungssystem der für thrombembolische Ereignisse prädisponierten Träger einer oder mehrerer der genannten genetischen Variationen von besonderem Interesse und sollen an einer selektierten Gruppe von Thrombozytenspendern untersucht werden, da auch zur Sicherheit der Apherese bei den Trägern der Risikofaktoren bisher keine Studien bekannt sind. Dazu wurden von uns 24 Thrombozytenspender/innen und Träger/innen

mindestens einer der genannten genetischen Varianten (FV:Q506-Mutation, PT G20210A-Mutation, MTHFR C677T-Variante) vor und nach Apherese bezüglich zahlreicher Gerinnungsparameter untersucht und mit einer gleich großen Kontrollgruppe (Alters- und Geschlechts-adaptiert) verglichen (**Kollektiv Thrombozytapherese**).

Weiterhin wurden die genetisch auffälligen Spender je nach Gendefekt einzeln, bzw. in Kombination untersucht (Spender mit mindestens einem genetischen Risikofaktor, Spender mit heterozygoter FV:Q506-Mutation, Spender mit heterozygoter PT G20210A-Mutation, Spender mit homozygoter MTHFR 677TT-Variante, Spender mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation) und die gefundenen Änderungen der Laborparameter unter der Apherese mit der Kontrollgruppe verglichen.

2.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Zur Ermittlung der Prävalenz der Faktor V:Q506-Mutation, der PT G20210A-Mutation sowie der MTHFR C677T-Variante im Gesamtkollektiv wurde das Blut aller Spender/innen, welche zur Spende kamen, ohne Selektion untersucht.

Bei allen untersuchten Spenden wurde sichergestellt, dass keine Auffälligkeiten bezüglich der in Tabelle 1 aufgeführten Blutwerte bestanden. Spender/innen, deren Werte ausserhalb des jeweils angegebenen Referenzbereiches lagen, wurden von der Möglichkeit der Befragung ausgeschlossen.

Sofern sie zur Verfügung standen, wurden alle anderen Spender zu ihrer Familienanamnese befragt. Spender, die nicht zur Befragung zur Verfügung standen (z.B. nicht erreichbar, Ablehnung des Interviews), konnten nicht in das Kollektiv Befragte eingeschlossen werden.

Alle Spender mit Risikofaktor, welche zum Zeitpunkt der Untersuchung noch aktive Thrombozytenspender waren, wurden -sofern sie erreichbar waren- in das Kollektiv Thrombozytapherese, welches vor und nach Apherese untersucht wurde, aufgenommen. Die gleich große Kontrollgruppe für das Kollektiv Thrombozytapherese wurde geschlechts- und altersadaptiert aus dem Kollektiv Befragte gebildet. Dabei wurden die Spender nach dem Zufallsprinzip anhand ihres Geburtsdatums und Geschlechts ausgewählt.

Laborwert	Referenzbereich
PTT	32-40 sec
Quick	70-120 %
Fibrinogen	1,8-3,5 g/l
Faktor II Aktivität	70-120 %
AT	80-120 %
Protein C	65-120 %
Protein S	60-120 %

Tabelle 1: Referenzbereiche

2.2.1 Probengewinnung

Den untersuchten Thrombozytenspendern wurde jeweils unmittelbar vor und nach der Apherese je ein zusätzliches Citratblutröhrchen abgenommen. Die Spender sind über diese zusätzlichen Untersuchungen sowie über die Datenverarbeitung aufgeklärt worden und haben sich schriftlich damit einverstanden erklärt (siehe Anhang „Einverständniserklärung“).

Bei der Blutentnahme wurde auf eine möglichst schonende Arbeitsweise geachtet. Sie wurde vom ärztlichen Personal der Transfusionsmedizinischen Abteilung der MHH durchgeführt. Die Entnahme erfolgte jedes mal über die Zuflußnadel des Apheresesystems. Die Citratblutröhrchen (0,09 mmol Citrat, Verhältnis Citrat zu Plasma: 1/10) wurden sofort nach der Abnahme zentrifugiert (3000 U/min, 10min), das Plasma in jeweils 4 Einfrierröhrchen (à 450 µl) abpipettiert und anschließend ohne Zwischenlagerung bei -80°C eingefroren.

Folgende Parameter wurden aus diesen Blutröhrchen bestimmt (siehe auch Kapitel „Tests und Materialien“):

Nur vor der Spende

freies Protein S und Protein C-Aktivität.

Vor und nach der Spende

Quick, PTT, Fibrinogen, Faktor II, Faktor V, Faktor VIII, Faktor XII, Antithrombin, APC-Resistenz, Thrombin-AT-Komplex und D-Dimere.

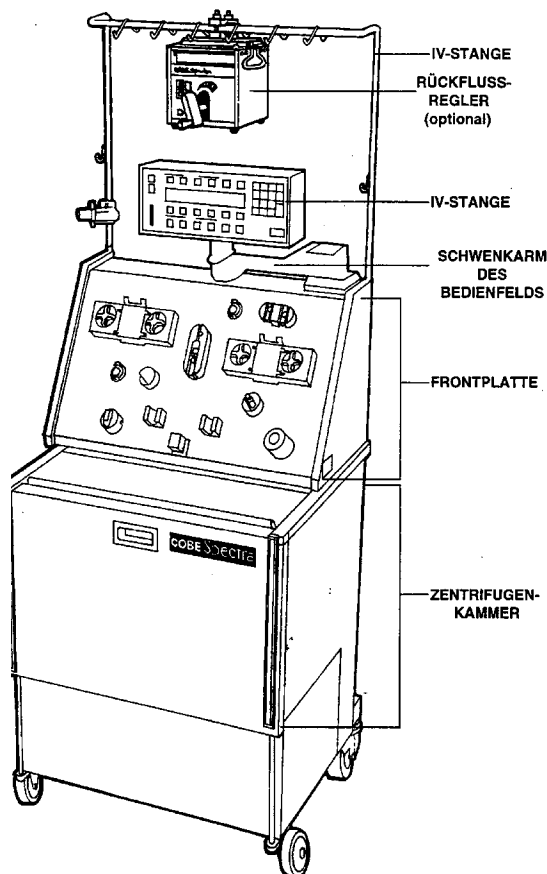
2.3 Das Apheresesystem

Bei allen Apherese, bei denen bei den Thrombozytenspendern vor und nach der Spende die Gerinnungsaktivierung gemessen wurde, kam das CobeSpectra™ Apheresesystem zur Anwendung, dessen Funktions- und Arbeitsweise im folgenden beschrieben wird.

2.3.1 Systembeschreibung

Das Spectra Apheresesystem dient zur Trennung und Sammlung von Blutkomponenten von Spendern und Patienten. Gespendete Blutprodukte werden zur Transfusion an Patienten gesammelt. Das Spectra System mit

Leukozytenreduzierungssystem kann zur Sammlung leukozytenarmer Thrombozytenkonzentrate für die Transfusion an Thrombopeniepatienten eingesetzt werden. Da dafür eine weitere Trennkammer nötig ist, erhöht sich die Gesamtoberfläche des Trennsystems.



Thrombozytensammlung und Plasmaaustausch können im Zweinadelbetrieb (eine Zuflussnadel und eine getrennte Rückflussnadel) oder im Einnadelbetrieb (eine Zufluss- und Rückflussnadel) erfolgen. Bei den untersuchten Spendern erfolgte die Apherese ausschließlich im Zweinadelbetrieb.

Abbildung 1: Cobe Spectra Apheresesystem (Erläuterungen im Text)

Das Apheresesystem besteht aus dem Einwegset (Blutschläuche und Trennkammer) und dem Spectra Apheresesystem. Das System umfaßt folgende Komponenten:

Spectra Einwegsets, bestehend aus einem sich in der Zentrifuge drehenden Trennkanal zur Auftrennung von Blut in dessen Bestandteile und aus Blutschläuchen, in denen Blut und Ersatzflüssigkeiten durch das System geleitet werden.

Spectra Apheresesystem, ein auf dem Zentrifugenprinzip basierender, automatischer Blutkörperchenseperator, der die Steuerung und Überwachung des extrakorporalen Kreislaufs bei der Apherese übernimmt.

Das Spectra Apheresesystem verwendet eine Zentrifugalmethode, um Vollblut in seine Hauptbestandteile aufzutrennen: Erythrozyten, Leukozyten einschließlich peripherer Blutstamm-Zellen, Thrombozyten und Plasma. Das Vollblut wird einem Spender oder Patienten entnommen, antikoaguliert (s.u.), in die Zentrifuge gepumpt und in seine Bestandteile aufgetrennt. Der gewünschte Bestandteil, hier Thrombozyten, wird gesammelt und die restlichen Komponenten werden an den Spender zurückgegeben.

Antikoaguliertes Vollblut wird in den Kanal gepumpt, während sich dieser in der Zentrifuge im Uhrzeigersinn dreht. Dadurch wird die Komponente mit der höchsten Dichte (rote Blutkörperchen) an der äußeren Kanalwand angereichert, während sich die Komponenten mit geringeren Dichten schichtenweise gegen die innere Wand hin auftrennen. Das Plasma ist wegen seiner niedrigsten Dichte der inneren Wand am nächsten. Im Kanal befinden sich mehrere Auslassschläuche. Der Fluss aus diesen Schläuchen wird gesammelt, oder die verschiedenen Komponenten werden je nach dem angewandten Verfahren zurückgeleitet.

Die Einlass- und Sammelkammern sind im Kanal getrennt. Ein Einlassschlauch liefert antikoaguliertes Vollblut in den Kanal. In einem Thrombozyten-Kanal gibt es vier Schläuche, die in die entsprechenden Kanalbereiche führen. Der Schlauch für rote Blutkörperchen reicht bis zur äußersten Wand des Kanals, der

Plasmaschlauch befindet sich an der am weitesten innen gelegenen Wand, und der Sammelschlauch und Schnittstellenkontrollschlauch liegen dazwischen, wo sich die rote Blutkörperchen/Plasma-Schnittstelle befindet. Die Schnittstelle ist die dünne Schicht (in der sich nach der Trennung die weißen Blutkörperchen oder Thrombozyten befinden) zwischen den konzentrierten roten Blutkörperchen und dem Plasma.

Der Kontrollschlauch legt, zusammen mit dem Verhältnis zwischen den Flussraten der roten Blutkörperchen und des Plasmas, den Spiegel der rote Blutkörperchen/Plasma-Schnittstelle fest und erhält diesen aufrecht, damit die Thrombozyten oder die weißen Blutkörperchen an der Schnittstelle gesammelt werden können. Das Verhältnis zwischen Zentrifugengeschwindigkeit und spezifischem Gewicht der Thrombozyten und weißen Blutkörperchen bestimmt, welche Zellpopulation sich an der Schnittstelle ansammelt. Rote Blutkörperchen und Plasma können direkt aus ihren jeweiligen Schläuchen gesammelt werden.

Bei dem in der Studie verwendeten System kam außerdem eine Leukozytenreduzierungstrennkammer zum Einsatz, welche den Anteil der Leukozyten in den gesammelten Thrombozytenpräparaten weiter verringert.

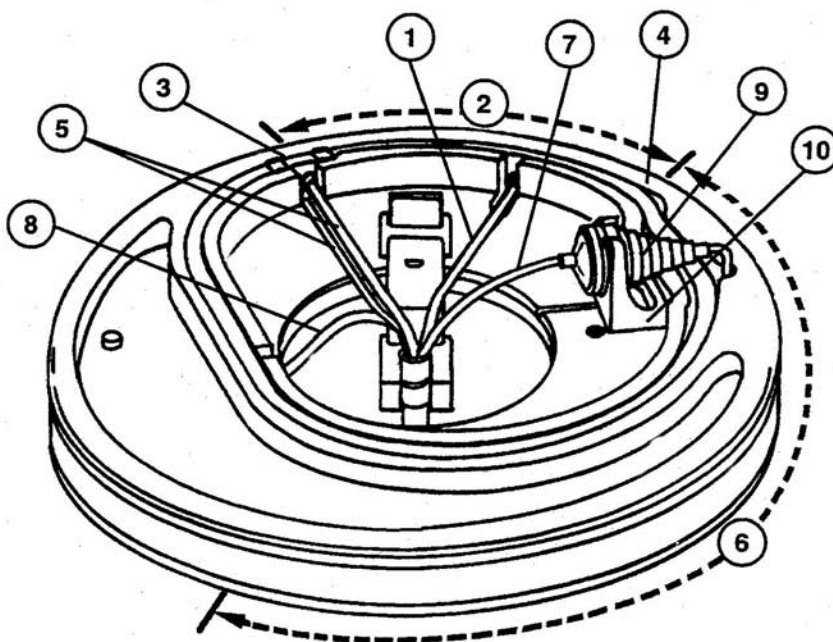


Abbildung 2: Einwegset zur Thrombozytenapherese (Legende s.u.)

Legende zur Abbildung Einwegset zur Thrombozytenapherese

1. **Einlaßschlauch**- hier fließt antikoaguliertes Vollblut in den Kanal.
2. **Erste Phase**- in diesem Kanalbereich, zwischen Kontrollkammer (3) und der zweiten Phase (6), werden rote und weiße Blutkörperchen vom thrombozytenreichen Plasma getrennt.
3. **Kontrollkammer**- dient als Schnittstelle zwischen erster und zweiter Phase.
4. **Damm**- trennt erste (2) und zweite (6) Phase.
5. **Zwei Auslaßschläuche**:
 - Schlauch für rote Blutkörperchen (großer Durchmesser)- über diesen Schlauch werden rote und weiße Blutkörperchen aus dem Kanal zum Spender zurückgeführt.
 - Kontrollschlauch (kleiner Durchmesser)- dient zur Kontrolle der Schnittstellenposition.
6. **Zweite Phase**- die stärkeren Zentrifugalkräfte in diesem Bereich des Kanals führen zur Trennung der Thrombozyten vom Plasma.
7. **Sammelschlauch**- über diesen Schlauch wird das Thrombozytenkonzentrat vom Kanal in die Sammelbeutel geleitet.
8. **Plasmaschlauch**- über diesen Schlauch wird das Plasma zum Patienten zurückgeleitet und dabei mit roten Blutkörperchen vermischt.
9. und 10. **Leukozyten-Reduktions-Kammer**- dient zur Trennung der weißen Blutkörperchen vom thrombozytenreichen Plasma.

2.3.2 Antikoagulation

Antikoagulation ist notwendig, um eine Koagulation im extrakorporalen Kreislauf zu verhindern. Sie stellt ferner geeignete Werte für pH und ionisiertes Kalzium ein, um bei Thrombozytensammlungen eine Verklumpung von Blutkörperchen zu verhindern.

ACD-A ist beim COBE Spectra Apheresesystem das zugelassene Antikoagulans für Thrombozytensammlungen. ACD-A enthält Acidum citricum purum 2,5%, Dextrose 2,34% und Natrium citricum 2,16%. Neben der gerinnungshemmenden Wirkung dient ACD-A Lösung auch als Konservierungszusatz zu Nativblut (um Blut über längere Zeit lagern, d.h. konservieren zu können, ist es notwendig, Energie-Träger, hier Dextrose, dem stabilisierten Blut hinzuzufügen).

Das Spectra System steuert die Antikoagulationszufußrate; dadurch wird die Antikoagulansmenge, welche die Spender oder Patienten zusammen mit den zurückfließenden Blutbestandteilen erhalten, festgelegt. Die Inzidenz symptomatischer Hypokalziämie hängt sowohl von der Flussrate des ACD-A als auch vom Gesamtblutvolumen des Spenders ab. Zur Bestimmung des Gesamtblutvolumens ist die Angabe von Geschlecht, Größe und Gewicht des Spenders oder Patienten erforderlich. Anhand der für den Spender/Patienten konfigurierten ACD-A-Infusionsrate (ml ACD-A/min./Liter Gesamtblutvolumen) berechnet das Apherese-System dann die zusammen mit dem Plasma entzogene Antikoagulansmenge und stellt die ACD-A-Pumpenflussrate individuell ein.

2.4 Verwendete Tests und Materialien

Für die Laboruntersuchungen an den Spendern wurden folgende Tests und Materialien verwendet:

2.4.1 Gerinnungsanalysen

2.4.1.1 aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Die PTT erfasst Gerinnungsstörungen des sogenannten „Intrinsic systems“ und gehört zu den Globaltests des Gerinnungssystems.³⁸

Testreagenzkit: Pathromtin, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany

Testprinzip: Nach drei Minuten Inkubation von Spendercitratplasma (100 µl) mit einer definierten Menge an Phospholipiden und Kaolin als Oberflächenaktivator (=Pathromtinreagenz 100 µl) und anschließender Zugabe von Calciumchloridlösung (37 °C, Molarität 0,025 mol/l, Menge 100 µl) wird der Gerinnungsvorgang im endogenen System ausgelöst. Es wird die Zeit (in Sekunden) bis zur Bildung des Fibrins gemessen.

Nach Einsetzen der Gerinnung, wird durch das entstehende Gerinnsel eine rotierende Stahlkugel aus der Bahn gebracht. Diese Lageveränderung wird mit einem magnetischen Sensor erfasst. Referenzbereich 32-40 Sekunden.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 57984500

Verwendbar bis: 10-1999

2.4.1.2 Quick-Test (Thromboplastinzeit)

Der Quick-Test erfasst in erster Linie Gerinnungsstörungen des sogenannten „Extrinsic Systems“ und gehört ebenfalls zu den Globaltests des Gerinnungssystems.³⁸

Testreagenzkit: Thromborel S, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany

Testprinzip: Zu Spendercitratplasma (1 Minute Inkubation bei 37 °C, Menge 100 µl) wird eine definierte Menge an Thromboplastin und Kalzium (=Thromborel S Reagenz, 200 µl auf 37°C erwärmt) hinzugegeben und so der Gerinnungsvorgang im exogenen System ausgelöst. Es wird die Zeit (in Sekunden) bis zur Bildung des Fibrins gemessen. Der Sekundenwert wird anhand einer Bezugstabelle in Prozent umgerechnet.

Nach Einsetzen der Gerinnung, wird durch das entstehende Gerinnsel eine rotierende Stahlkugel aus der Bahn gebracht. Diese Lageveränderung wird mit einem magnetischen Sensor erfasst. Referenzbereich 70-120%.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 05-22-6859

Verwendbar bis: 02-2000

2.4.1.3 Fibrinogen nach Clauss

Fibrinogen erfüllt im Gerinnungssystem verschiedene Aufgaben. So bildet es einerseits u.a. die Vorstufe für den netzförmigen Wundverschluss Fibrin; andererseits ist es auch ein akute Phase Protein, welches insbesondere bei Entzündungen ansteigt. Darüber hinaus gelten erhöhte Fibrinogenkonzentrationen als ein Risikofaktor sowohl für die Ausbildung arterieller Verschlusskrankheiten wie Myokardinfarkt³⁹ als auch für venösen Verschlüssen.⁴⁰

Auch bei Apoplex, akuten venösen Thrombembolien, Diabetes mellitus sowie unter der Einnahme von Ovulationshemmern wurden erhöhte Fibrinogenkonzentrationen beschrieben.^{38,41,42}

Testreagenzkit: Multifibren, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany

Testprinzip: Die Methode von Clauss beruht darauf, dass bei Fibrinogenkonzentrationen zwischen 0,1- 0,4 g/l nach Zugabe einer standardisierten Menge Thrombin die gemessene Gerinnungszeit proportional zu der Fibrinogenmenge ist. Dazu werden 200 µl Spendercitratplasma (im

Verhältnis 1:9 mit Barbitalpufferlösung verdünnt) 60 sec bei 37°C inkubiert und dann mit einer großen Menge Thrombin (200 µl) zur Gerinnung gebracht. Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab; eventuell vorhandene gerinnungshemmende Substanzen beeinflussen den Test kaum. Referenzbereich: 1,8- 3,5 g/l

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 65 99 47

Verwendbar bis: 08-1999

2.4.1.4 Faktor II Aktivität

Faktor II ist zusammen mit den Faktoren VII, IX, und X Teil des Prothrombinkomplexes und wird Vitamin K abhängig in der Leber synthetisiert. Verminderungen des Faktor II können angeborene oder erworbene Ursachen haben. Zu den erworbenen Ursachen zählt u.a. die eingeschränkte Proteinsyntheseleistung im Rahmen von Lebererkrankungen (z.B bei Hepatitis) sowie Vitamin K-Mangelzustände jeglicher Ursache (Cumarintherapie, Vitamin K-freie Ernährung, Antibiotikatherapie, Gallenwegverschluss u.a.). Auch bei Verlust- und bei Verbrauchskoagulopathien werden Verminderungen der Faktor II Aktivität beobachtet.³⁸ Hereditäre Mangelzustände kommen selten vor. Hier kann unterschieden werden zwischen reiner Hypoprothrombinämie und Dysprothrombinämien mit deutlichen Unterschieden bezüglich Konzentration und Aktivität von Faktor II. Erhöhte Konzentrationen finden sich bei homo- und heterozygoter Prothrombinmutation (PT G20210A-Mutation) und beinhalten ein erheblich erhöhtes Thromboserisiko (siehe Einleitung). Auch in verschiedenen klinischen Situationen, wie bei Hyperlipidämien⁴³, postoperativ, nach Einnahme von Ovulationshemmern, in der ersten Phase der Verbrauchskoagulopathie sowie reaktiv nach Vitamin K-Gabe finden sich erhöhte Faktor II Aktivitäten.⁴⁴⁻⁴⁶

Testreagenzkit: Gerinnungsfaktor II Mangelplasma, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany, sowie Quickreagenz (wie oben)

Testprinzip: Der Mangel an einem der Faktoren des extrinsischen Gerinnungssystems (z.B. Faktor II) führt zu einer verlängerten Thromboplastinzeit. Zur Einzelfaktorbestimmung von Faktor II wird die Thromboplastinzeit einer Mischung von Faktor II-Mangelplasma (Plasma mit einer Restaktivität von Faktor II $< 1\%$) mit dem entsprechenden Spendercitratplasma gemessen. Spendercitratplasma dem Faktor II fehlt, ist nicht in der Lage, die Abwesenheit dieses Faktors im Mangelplasma auszugleichen, woraus eine Verlängerung der Thromboplastinzeit resultiert. Die Aktivität von Faktor II in % der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, die mit Verdünnungen von Standard-Human-Plasma (s.u.) in Mischung mit Faktor II- Mangelplasma erstellt wird.

Die Bezugskurve wurde aus Verdünnungen von Standard-Human-Plasma mit Diätylbarbiturat-Acetat-Puffer (pH 7,6) in den Verdünnungen 1:20, 1:40 und 1:200 erstellt.

Bei der Durchführung wurden 100 μl Faktor II Mangelplasma mit 100 μl Spendercitratplasma (im Verhältnis 1:9 mit Diätylbarbiturat- Acetat- Puffer verdünnt) 60 Sekunden bei 37 °C inkubiert. Nach Hinzufügen von 200 μl Thromborel S (siehe Quick-Test) wurde die Gerinnungszeit in Sekunden bestimmt. Referenzbereich: 70-125% der Norm.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 14 53 58

Verwendbar bis:01- 2000

2.4.1.5 Faktor V Aktivität

Gerinnungsfaktor V ist der Kofaktor von Faktor Xa, seine Anwesenheit beschleunigt die Bildung von Thrombin durch Faktor Xa um ein Vielfaches. Verminderungen der Faktor V Aktivität findet man u.a. bei Umsatzstörungen wie Verbrauchs- oder Verlustkoagulopathien sowie bei Synthesestörungen aufgrund eines schweren Leberzellschadens (z.B. Leberzirrhose). Unter den angeborenen Mangelzuständen kommt am häufigsten die heterozygote Form vor. Es wird zwischen dem echten Faktor V Mangel und den Dysformen des

Faktor V Moleküls unterschieden.^{38,46,47} Ursachen von erhöhten Konzentrationen können akute Thrombosen, entzündliche Prozesse und Operationen sein. Auch bei Urämie und Cholestase können erhöhte Faktor V Aktivitäten vorkommen.³⁸ Konzentrationen über 120% werden dem Begriff Hyperkoagulabilität zugeordnet, d.h. sie kommen besonders in Phasen erhöhter Thrombembolieeignung (z.B. postoperativ) vor.³⁸

Testreagenzkit: Gerinnungsfaktor V-Mangelplasma, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany sowie Quick-Reagenz (s. oben)

Testprinzip: Der Mangel an Faktor V führt zu einer verlängerten Thromboplastinzeit. Zur Einzelfaktorbestimmung von Faktor V wird die Thromboplastinzeit einer Mischung von Faktor V-Mangelplasma (Plasma mit einer Restaktivität von Faktor V < 1%) mit dem entsprechenden Spendercitratplasma gemessen. Ein Spendercitratplasma, dem Faktor V fehlt, ist nicht in der Lage, die Abwesenheit dieses Faktors im Mangelplasma auszugleichen, woraus eine Verlängerung der Thromboplastinzeit resultiert. Die Aktivität von Faktor V in % der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, die mit Verdünnungen von Standard-Human-Plasma (s.u.) in Mischung mit Faktor V- Mangelplasma erstellt wird.

Die Bezugskurve wurde aus Verdünnungen von Standard-Human-Plasma mit Diätylbarbiturat-Acetat-Puffer pH 7,6 in den Verdünnungen 1:20, 1:40 und 1:200 erstellt.

Bei der Durchführung wurden 100 µl Faktor V Mangelplasma mit 100 µl Spendercitratplasma (im Verhältnis 1:20 mit Diätylbarbiturat- Acetat- Puffer verdünnt) 60 Sekunden bei 37 °C inkubiert. Nach Hinzufügen von 200 µl Thromborel S (siehe Quick-Test) wurde die Gerinnungszeit in Sekunden bestimmt. Referenzbereich: 60-120% der Norm.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 85 78 62

Verwendbar bis: 09-1999

2.4.1.6 Faktor VIII Aktivität

Faktor VIII ist Kofaktor der Protease Faktor IXa und beschleunigt so die Umwandlung von Faktor X in Faktor Xa. Verminderungen von Faktor VIII finden sich u.a. bei der Hämophilie A, beim von Willebrand Syndrom Typ 3 und 2N, selten auch bei Typ 2A, 2B sowie Typ 1 sowie bei Verbrauchskoagulopathien,⁴⁸ Hyperfibrinolyse, bei Autoimmunerkrankungen, etc..⁴⁹ Erhöhte Faktor VIII Spiegel finden sich u.a. postoperativ, nach Polytrauma, Leber- und Gefäßerkrankungen, bei Einnahme von Ovulationshemmer, bei Entzündungen (akute Phasen Protein) sowie bei Tumoren und psychischem Stress. Erhöhte Faktor VIII-Aktivitäten können Thrombembolien verursachen.^{38,50}

Testreagenzkit: Coamatic® Faktor VIII, Chromogenix AB, Mölndal, Sweden

Testprinzip: Faktor X wird, in Anwesenheit von Kalzium und Phospholipid, durch Faktor IXa zu Faktor Xa aktiviert. Diese Reaktion wird durch Faktor VIII als Kofaktor stimuliert. Bei Verwendung einer definierten Menge Ca^{2+} , Phospholipid und Faktor IXa und einem Überschuß an Faktor X, ist die Aktivierung von Faktor X linear zur Menge des verfügbaren Faktor VIII.

Dazu wurden 50 µl Spendercitratplasma (im Verhältnis 25:2000 mit 0,025 mol/L Trispuffer verdünnt) mit 50 µl Faktorenreagenz (Faktor IXa, Faktor X, Thrombin, 40 µl CaCl_2 , 0,2 µl Phospholipid) 2 Minuten bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden 50 µl chromogenes Substrat S2765 + I-2581 (N- α -Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA + Thrombininhibitor) hinzugefügt und weitere 2 Minuten bei 37 °C inkubiert. Aktivierter Faktor X spaltet vom chromogenen Substrat S-2765 die chromophore Gruppe pNA ab (Abbildung 3). Die Spaltung des Substrates durch Thrombin wurde durch Zugabe eines synthetischen Thrombininhibitors (I-2581) verhindert. Nach Zugabe von 50 µl 20%iger Essigsäure wurde die Absorbtion bei 405 nm gemessen. Die bei 405 nm gemessene pNA Freisetzung ist proportional zur Faktor VIII Aktivität der Probe. Die Konzentration der Probe wurde anhand einer Standardkurve bestimmt. Diese Bezugskurve wurde aus Verdünnungen von Standard-Human-Plasma (s.u.)

mit 0,025 mol/l Tris- Puffer pH 7,6 in den Verdünnungen 1,0; 0,5; 0,25 und 0 erstellt. Referenzbereich: 50-150% der Norm.

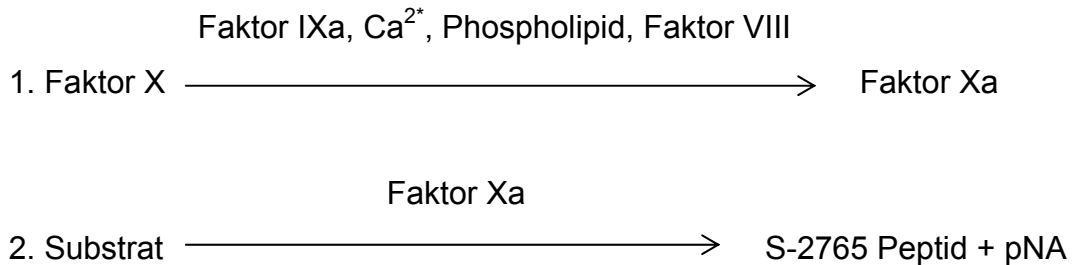


Abbildung 3: Prinzip der Messung der Faktor VIII Aktivität mittels chromogenem Substrat.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 04 2000 4551

Verwendbar bis: 04-2000

2.4.1.7 Faktor XII Aktivität

Faktor XII (Hageman-Faktor) ist der klassische Kontaktfaktor des intrinsischen Gerinnungssystems, er ist aber auch involviert in Fibrinolyse und Komplementsystem.⁵¹ Ursachen der Verminderung können ein angeborener Mangel sein sowie eine erhöhter Umsatz bei Verbrauchskoagulopathie, nephrotischem Syndrom oder Lupusantikoagulanzen (Phospholipid-AK-Syndrom).⁵² Erhöhte Werte finden sich in der Schwangerschaft und bei Einnahme von Ovulationshemmern. Ob der schwere Faktor XII Mangel mit einem erhöhten Risiko venöser Thrombosen assoziiert ist,⁵³ ist umstritten.⁵² In diesem Zusammenhang ist er jedoch wegen des großen Fremdoberflächenkontakts, an denen er aktiviert wird,⁵⁴ von Interesse.

Testreagenzkit: Faktor XII Aktivität Kit, Dade- Behring GmbH, Marburg, Germany sowie PTT-Reagenz (s. oben)

Testprinzip: Der Mangel an einem der Faktoren des intrinsischen Systems führt zu einer verlängerten partiellen Thromboplastinzeit (PTT). Zur Bestimmung der Faktor XII Aktivität wird die PTT einer Mischung aus Faktor XII Mangelplasma

(Plasma mit einer Restaktivität von Faktor XII < 1%) mit dem Spendercitratplasma gemessen. Ein Spendercitratplasma, dem der Gerinnungsfaktor XII fehlt, ist nicht in der Lage, die Abwesenheit von Faktor XII im Mangelplasma auszugleichen, woraus eine Verlängerung der PTT resultiert. Die Aktivität des Faktors XII in % der Norm wird über eine Bezugskurve ermittelt, die mit Verdünnungen von Standard-Human-Plasma in Mischung mit dem Mangelplasma erstellt wird.

Die Bezugskurve wurde aus Verdünnungen von Standard-Human-Plasma mit Diätylbarbiturat-Acetat-Puffer pH 7,6 in den Verdünnungen 1:20, 1:40 und 1:200 erstellt.

Bei der Durchführung wurden 100 µl Faktor XII Mangelplasma mit 100 µl mit 100µl Spendercitratplasma (im Verhältnis 1:5 mit Diätylbarbiturat- Acetat-Puffer verdünnt) 60 Sekunden bei 37 °C inkubiert. Nach Hinzufügen von 200 µl Thromborel S (siehe Quick-Test) wurde die Gerinnungszeit in Sekunden bestimmt. Referenzbereich: 50-150% der Norm.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 500 442

Verwendbar bis: 09- 2000

2.4.1.8 Antithrombin Aktivität

Antithrombin ist der natürliche Inhibitor von Thrombin und Faktor Xa durch Komplexbildung (diese wird durch Heparin schlagartig verstärkt). Ursachen für einen Mangel können angeboren sein. Ebenso können Verbrauchskoagulopathien sowie Proteinverlust, Sepsis, Ovulationshemmer, Heparintherapie sowie Hyperfibrinolyse eine erniedrigte Aktivität bewirken. Erhöhte Antithrombin Werte finden sich bei Vitamin K-Mangel, KHK sowie in der akuten Phase. Eine verminderte Aktivität kann mit einem erhöhten Thrombembolierisiko einhergehen (besonders bei Aktivitäten unter 40%).^{38,55,56}

Testreagenzkit: Antithrombin LR-Chromogenix, Chromogenix AB, Mölndal, Sweden

Testprinzip: Spendercitratplasma wird mit einem Überschuss an Faktor Xa (FXa) und Heparin inkubiert. Das im Plasma vorhandene Antithrombin bildet einen (AT-Heparin) Komplex, der die Faktor Xa- Aktivität teilweise inhibiert. Der restliche Faktor Xa spaltet vom chromogenen Substrat S-2772 die chromophore Gruppe pNA ab. Die bei 405 nm gemessene pNA Freisetzung ist umgekehrt proportional zum Antithrombingehalt der Plasmaprobe.

Zunächst wurde das Spendercitratblut 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand in ein Probengefäß abpittetiert. Anschließend wurden die Faktor Xa Lösung und das chromogene Substrat S-2772 im CS 400 – AMGA Gerinnungsmesssystem installiert. Im AMGA wurden die Reagentien nach folgendem Testansatz verarbeitet: 3 µl Spendercitratplasma, 350 µl Faktor Xa Lösung, 50 µl chromogenes Substrat S-2772, 180 sek Inkubationszeit. Dieser Testansatz wurde bei einer Wellenlänge von 405 nm optisch gemessen, mit 3 verschiedenen Messpunkten, jeweils nach 30, 60 und 90 sec. Nach Ablauf der Reaktion des Antithrombin wurde die Extinktion auf der Bezugskurve im PC automatisch abgelesen und über einen angeschlossenen Drucker ausgedruckt. Referenzbereich: 80-120% der Norm.

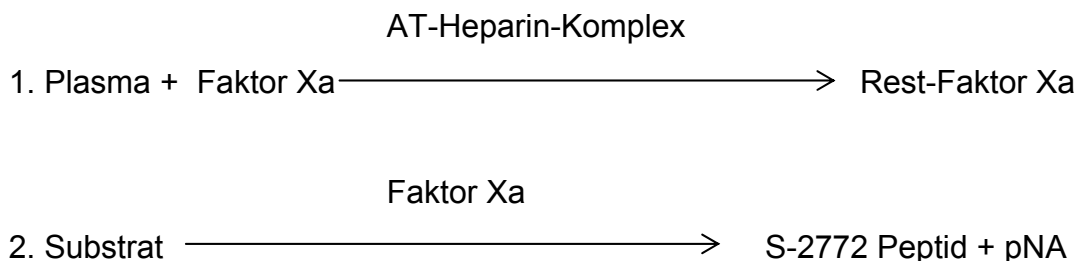


Abbildung 4: Prinzip der Messung der Antithrombin-Aktivität mittels chromogenem Substrat.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: B03-167-95-10

Verwendbar bis: 04-2000

2.4.1.9 APC- Resistenz (Faktor Q:506-Mutation)

Durch Mutation im Faktor V Gen hervorgerufene Resistenz des Faktor Va gegen aktiviertes Protein C (zumeist infolge Faktor V:Q506-Mutation). Die APC-Resistenz stellt die häufigste Ursache der familiären, jugendlichen Thromboseneigung dar. Patienten mit heterozygotem Defekt haben ein 7fach erhöhtes Thromboserisiko im Vergleich zu unauffälligen Spendern (siehe auch Einleitung).⁵⁷⁻⁵⁹

Testreagenzkit: Coatest APC Resistance, Chromogenix Instrumentation Laboratory SpA, Milano, Italy

Testprinzip: 25 µl Spendercitratplasma wird mit 100 µl V-DEF Plasma (stabilisiertes humanes Plasma mit einer niedrigen Faktor V Restaktivität und einem Heparinantagonist) verdünnt und für 5 Minuten mit 125 µl aPTT Reagenz (gereinigte Phospholipide mit kolloidalem Silika als Kontaktaktivator) inkubiert. Die Zeitdauer bis zur Fibrinbildung wird nach Zugabe von CaCl_2 (0,025 mol/l) mit und ohne aktiviertem Protein C (APC) in Sekunden gemessen. Die APC Resistenz wird als Ratio angegeben:

aPTT nach Zusatz von Protein Ca

aPTT Ausgangswert

Referenzbereich: $\geq 2,0$

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 03 2000 4531

Verwendbar bis: 03 2000

2.4.1.10 Human-Thrombin/Antithrombin-Komplex (TAT)

Thrombin kommt im Blut überwiegend in einem Komplex mit Antithrombin gebunden vor. Die Bestimmung des Thrombin/Antithrombin-Komplexes spiegelt daher das Ausmaß thrombinspezifischer, intravasaler Gerinnungsprozesse wieder. Ursache einer erhöhten TAT-Konzentration im Plasma können Verbrauchskoagulopathien, Polytrauma, pAVK, Schock, Herzinfarkt und frische Wundflächen sein. Auch bei malignen Erkrankungen wurden in Abhängigkeit vom Tumorstadium erhöhte TAT-Spiegel festgestellt.

Im Verlauf von Heparin- und Fibrinolyse-Therapie wurden Anstiege der TAT-Konzentration beobachtet.^{60,61 62-65}

Testreagenzkit: Enzygnost TAT micro, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany.

Testprinzip: Enzygnost TAT micro ist ein Enzymimmunoassay nach dem Sandwich-Prinzip zur in-vitro-Bestimmung des Human-Thrombin/Antithrombin-Komplexes (TAT).

Während einer ersten Inkubation (15 min bei 37 °C) bindet sich das in dem Spendercitratplasma (100 µl) vorhandene TAT an die Antikörper gegen Thrombin, die an der Oberfläche der Mikrotitrationsplatte fixiert sind. Nach dem Auswaschen werden in einer zweiten Inkubation (15 min bei 37 °C) Peroxidase-konjugierte Antikörper gegen Human-AT (100 µl Konjugationslösung) an die freien AT-Determinanten gebunden. Die überschüssigen Enzym konjugierten Antikörper werden ausgewaschen. Anschließend wird das Spendercitratplasma mit 100 µl Chromogen-Substrat-Lösung (o-Phenylendiamin-dihydrochlorid) 30 Minuten bei 20 °C inkubiert.

Die enzymatische Umsetzung von Wasserstoffperoxid und Chromogen wird durch Zusatz von 100 µl verdünnter 0,5 N (Normalität = Molarität x Wertigkeit) Schwefelsäure unterbrochen. Die der Konzentration von TAT proportionale Farbintensität wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 492 nm gegen destilliertes Wasser bestimmt. Referenzbereich: 1,0- 4,1 µg/l.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 29 711

Verwendbar bis: 08-01-2000

2.4.1.11 D-Dimere

Die Bezeichnung „D-Dimer“ wird synonym gebraucht für alle wasserlöslichen quervernetzten Fibrinabbauprodukte, unabhängig von Ihrer Größe sofern sie das D-D-Epitop enthalten.⁶⁶ Die quantitative Bestimmung der D-Dimer-

Konzentration im Plasma wird eingesetzt, um eine abnorme intravasale Bildung von wasserlöslichen Abbauprodukten quervernetzten Fibrins nachzuweisen oder auszuschließen. Es wird dabei vorausgesetzt, dass die Konzentration der D-Dimere dem Ausmaß der intravasalen, thrombininduzierten Fibrinbildung entspricht.

Erhöhte D-Dimer Konzentrationen finden sich im Plasma bei frischen Wundflächen in Abhängigkeit von Größe und Alter der Wunde,³⁸ disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC),⁶⁷ venösen oder arteriellen Thrombembolien.⁶⁸ Erhöhte D-Dimer Konzentrationen finden sich auch bei verschiedenen Grundleiden wie Tumoren, Sepsis oder Gestosen.⁶⁹

Testreagenzkit: Tina-quant® D-Dimer, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany

Testprinzip: Es handelt sich um eine automatische, immunologische Trübungsmessung. Ein an Latexpartikel gebundener, monoklonaler Antikörper (JIF-23) reagiert spezifisch mit D-Dimeren, die das konformatielle D-Dimer Epitop enthalten. Die Menge der gebildeten Immunkomplexe korreliert mit der Trübung der Probe. Die Messung erfolgt im Spendercitratplasma in einem Wellenlängenbereich von 700-950 nm.

Zunächst wurde das Spendercitratblut 15 min bei 3000 U/min zentrifugiert und 200 µl Überstand in ein Probengefäß abpittetiert. Anschließend wurde der Puffer (Tris/HCl-Puffer: 370 mmol/l, pH 8,2; NaCl: 267 mmol/l) und die Anti-D-Dimer Latexsuspension (Latexpartikel beladen mit monoklonalen Anti-Human-D-Dimer-Antikörpern: 0,15%; Tris /HCl-Puffer: 10 mmol/l) 30 min im Wasserbad bei 37 °C aktiviert und wieder abgekühlt. Im Hitachi 902 wurden die Reagentien nach folgendem Testansatz verarbeitet: 7 µl Spendercitratplasma, 125 µl Puffer, 125 µl Anti-D-Dimer-Latexsuspension, 300 sek Inkubationszeit. Dieser Testansatz wurde bei einer Wellenlänge von 800 nm optisch gemessen. Die Extinktion wurde auf der im Gerät vorhandenen Bezugskurve automatisch

abgelesen und über einen im Gerät integrierten Drucker ausgedruckt.
Referenzbereich: < 500 µg/l.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 69681801

Verwendbar bis: 09-1999

2.4.1.12 Freies Protein S (Elisa)

Protein S fungiert als Kofaktor von Protein C und hat somit Inhibitorfunktion im Gerinnungssystem. Durch Protein S wird die Inaktivierung von Faktor Va und Faktor VIIIa beschleunigt. Ursache von Verminderung an Protein S können angeborener Mangel sowie Lebererkrankungen, Vitamin K-Mangel (Cumarine!), entzündliche Darmerkrankungen, nephrotisches Syndrom, Einnahme von Ovulationshemmern u.a. sein. Konzentrationen unter 60% bedeuten eine erhöhte Thrombemboliegefährdung.^{70,71}

Testreagenzkit: ASSERACHROM Protein S, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany

Testprinzip: Im Plasma liegt Protein S im Gleichgewicht zwischen freiem (ca. 40%) und an den Komplementbestandteil C4b- Binding – Protein gebundenem Protein S (ca. 60%) vor. Nur das freie Protein S ist antikoagulatorisch wirksam. Daher wird vor Durchführung des Sandwich- Assays das an C4b gebundene Protein S mit Polyethylenglykol 6000 gefällt.

Dazu wurden 300µl Spendercitratplasma mit 50µl Polyethylenglykol 6000-Lösung geschüttelt und 5min bei 37°C inkubiert und anschließend 30min im Eisbad inkubiert. Nachdem 10min bei 2000g zentrifugiert wurde, kann der Überstand zur Bestimmung von freiem Protein eingesetzt werden.

Die eigentliche Bestimmung erfolgte mittels Sandwich-Assay: Bei der ersten Immunreaktion binden die auf den Mikrotitrationstreifen fixierten Antikörper gegen Protein S das freie Protein S (das an C4b-Binding Protein gebundene Protein S der Probe wurde zuvor ausgefällt). Dazu wurden 200 µl verdünntes

Spendercitratplasma 2 Stunden auf der Mikrotitrationsplatte bei 20 °C inkubiert, und anschließend mittels 250 µl Waschlösung herausgewaschen. Protein S besitzt mehrere antigene Determinanten. Daher werden in der anschließenden zweiten Immunreaktion mit Peroxidase-markierten Protein S Antikörpern Sandwich-Komplexe gebildet, deren Menge ein Maß für den Protein S Gehalt der Probe darstellt. Dazu wurden 200 µl anti-Protein S Peroxidase Konjugationslösung bei 20 °C 2 Stunden auf der Mikrotitrationsplatte inkubiert und im nachfolgenden Waschschrift (bound-free-separation) wird das nicht gebundene Peroxidase- Konjugat entfernt (mittels 250 µl Waschlösung).

Anschließend wurden 200 µl H₂O₂ und Chromogen (o-Phenylendiamin) 3 Minuten lang auf der Mikrotitrationsplatte bei 20 °C inkubiert. Nach Zugabe der 100 µl Stopplösung (Salzsäure 1 mol/l) und weiteren 10 Minuten Inkubation, wurde die gebundene Peroxidase-Aktivität photometrisch gegen eine Bezugskurve einer Protein S Standardlösung bestimmt. Die Bezugskurve wurde als geometrische Verdünnungsreihe erstellt (1+100, 1+200, 1+400, 1+800, 1+1600, 1+3200). Referenzbereich: 60-120% der Norm.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 681087-01

Verwendbar bis: 07-1999

2.4.1.13 Protein C Aktivität (chromogenes Substrat)

Protein C ist ein durch Mammen und Seegers⁷² entdeckter Inhibitor der plasmatischen Gerinnung. Durch Thrombin aktiviert entfaltet es seine inhibitorische Wirkung im Wesentlichen über die Inaktivierung von aktiviertem Faktor V und VIII.⁷³

Verminderte Konzentrationen an Protein C finden sich beim heterozygoten (oder selten homozygoten) familiären Mangel mit der Folge von thrombembolischen Ereignissen in den ersten Lebensdekaden.⁷⁴ Weitere Möglichkeiten einer Verminderung der Konzentration können Lebererkrankungen,⁷⁵ chronisch entzündliche Darmerkrankungen⁷⁶ sowie Cumarintherapie⁷⁷ sein.

Erhöhte Konzentrationen von Protein C wurden bei Einnahme von Ovulationshemmern, bzw. Anabolika beschrieben sowie auch während der Schwangerschaft.³⁸

Testreagenzkit: Berichrom[®] Protein C, Dade Behring GmbH, Marburg, Germany

Testprinzip: Amidolytische Methode. Das Protein C des Spendercitratplasmas wurde mit einem spezifischen Schlangengiftaktivator (Gift von Agkistrodon contortrix) aktiviert. Dazu wurden 100 µl Plasma mit 1000 µl Protein C Aktivator 5 Minuten lang bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurden 200 µl Substratreagenz (pyro- Glutaminsäure-Prolin-Arginin-methoxy-Nitroanilid, 4 mmol/l) hinzugegeben und nochmals für 5 Minuten inkubiert. Nach Zugabe von 1000 µl 20%iger Essigsäure wurde die Extinktion bei 405 nm gegen den Probenleerwert bestimmt.

Berechnung des Faktors:

$F_L = \text{Sollwert (\% der Norm)}_{\text{Bezugsplasma}} / E (\text{Extinktion})_{\text{Bezugsplasma}}$. Mit dem erhaltenen Faktor wurde die Extinktion der Probe multipliziert; man erhält Protein C in % der Norm. Referenzbereich: 65-120% der Norm.

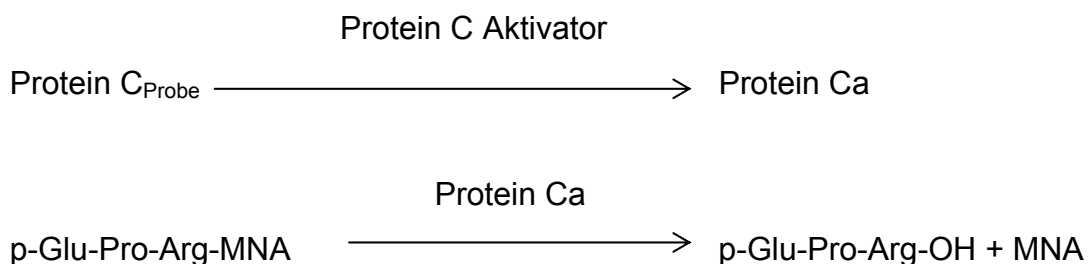


Abbildung 5: Reaktionsschema der Protein C-Bestimmung

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.-Nummer: 45 731

Verwendbar bis: 07-02-2000

2.4.1.14 Verwendetes Standard-Human-Plasma

Standard-Human-Plasma, Dade-Behring GmbH, Marburg, Germany, Citratplasma für Gerinnungsteste. Dieses Plasma ist kalibriert an einem frischen humanem Citratplasmapool, der definitionsgemäß für alle Faktoren 100% der Norm aufweist.

Es ist geeignet zur Kontrolle von Faktor II, V, VIII, X, XII, AT III, Protein S, Protein C u.a. Gerinnungsfaktoren, für die ein WHO Standard existiert, werden an diesem kalibriert und in internationalen Einheiten angegeben.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 50 25 67

Verwendbar bis: 05-2000

2.4.1.15 Verwendetes Kontroll-Plasma N (normal)

Kontroll-Plasma N, Dade-Behring GmbH, Marburg, Germany

Kontrollplasma für die Richtigkeitskontrolle von Gerinnungs- und Fibrinolysetests im Normalbereich.

Verwendetes Testreagenzkit: Lot.- Nummer: 50 27 89A

Verwendbar bis: 03-1999

2.4.2 Genanalysen

2.4.2.1 Prothrombin (20210 G->A) Mutation

Prothrombin Gene Mutation Assay, Vienna Lab Labordiagnostik GmbH, Austria
Testnachweissystem zur Genotypisierung der homozygoten oder heterozygoten PT G20210A-Mutation .

Die PT G20210A-Mutation gilt als unabhängiger, angeborener Risikofaktor für thrombembolische Ereignisse (siehe Einleitung)

Testprinzip: Zunächst wird die DNA aus EDTA Blut extrahiert. Dazu werden 100 µl EDTA-Spenderblut mit mittels 1 ml Lysepuffer inkubiert und so zur Lyse gebracht. Nach 5 min Zentrifugation bei 3000 U/min wird der Überstand entfernt. Nach Zugabe von 200µl GENx Tract Resin und 20 min Inkubation bei 56 °C und anschließend 10 min bei 98 °C wird 5 min bei 12000 U/min zentrifugiert. Der Überstand enthält Einzelstrang DNA, welche mittels in vitro Amplifikation (PCR) vervielfältigt wird.

Dazu werden 10 µl Spender DNA mit 50 µl Master-Mix (enthält Taq Verdünnungspuffer, Taq-DNA-Polymerase und Amplifikationsmix) in ein Cyclor-Röhrchen pipetiert. Dieses wird dann 2 min auf 94 °C erhitzt. Es folgen 35 PCR Zyklen (15 sek bei 94 °C, 30 sek bei 58 °C, 30 sek bei 72 °C).

Nach DNA Extraktion und Amplifikation werden die Amplifikate an zwei spezifisch markierte Sonden hybridisiert.

Dazu werden die Amplifikate (je Spender 50 µl) zunächst mittels 50 µl Denaturierungslösung inkubiert und denaturiert. Anschließend werden abwechselnd 100 µl Hybridisierungssonde des Wildtyps und 100 µl Hybridisierungssonde der Mutation in ein Nöpfchen der Mikrotiterplatte pipetiert und diesen jeweils 25 µl des Amplifikats des Spenders hinzugefügt und für 30 min im Wasserbad bei 37 °C inkubiert. Es kommt zu einer Bindung entweder nur der Sonde des Wildtyps (homozygoter Zustand des Wildtyps)

oder des Wildtyps und der Mutation (heterozygoter Zustand) oder nur der Mutation (homozygoter Zustand der Mutation).

Anschließend wird die Mikrotiterplatte geleert und jeder Mikrotiternapf mit je 300 µl Waschlösung gefüllt um die überschüssigen Hybridisierungs sonden zu entfernen. Diese wird für 10 min bei 37° inkubiert und anschließend wieder entfernt. Dieser Vorgang wird noch zweimal wiederholt. Dann werden in jeden Mikrotiternapf 100 µl Konjugatlösung (enzym- markierter Antikörper) pipettiert und 15 min inkubiert. Die Mikrotiterplatte wird dann wieder geleert und überschüssige Konjugatlösung mittels je 300 µl Waschlösung herausgelöst. Diese wird dreimal je 5 min in der Platte inkubiert und anschließend entfernt.

Ist der Überschuß an Konjugat herausgelöst werden in jeden Mikrotiternapf je 100 µl Farentwickler gegeben. Die Reaktion wird nach 15 min gestoppt und die Extinktion bei 450 nm am Elisa-Reader innerhalb von 30 min gemessen (siehe Abbildung 6).

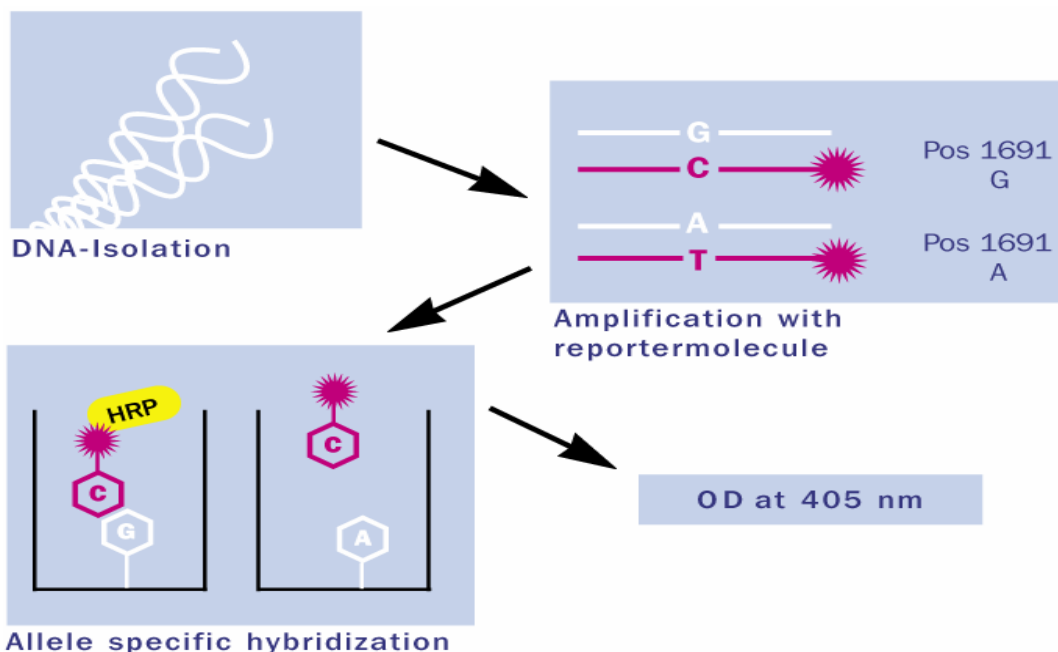


Abbildung 6 : Testprinzip der Genanalysen

Verwendete Testreagenzkits:

Lot.- Nummer: 01-EL-98

Verwendbar bis: 09-1999

2.4.2.2 Faktor V:Q506 Mutation

Faktor V Gene Mutation Assay, Vienna Lab Labordiagnostik GmbH, Austria
Testnachweissystem zur Genotypisierung der homozygoten oder heterozygoten FV:Q506-Mutation.

Die FV:Q506-Mutation gilt ebenfalls als unabhängiger, angeborener Risikofaktor für thrombembolische Ereignisse (siehe Einleitung).

Testprinzip: Nach DNA Extraktion und Amplifikation werden die Amplifikate an zwei spezifisch markierte Sonden hybridisiert. Es kommt zu einer Bindung entweder

- nur des Wildtyps (homozygoter Zustand des Wildtyps) oder
- des Wildtyps und der Mutation (heterozygoter Zustand) oder
- nur der Mutation (homozygoter Zustand der Mutation).

Mit einem enzym- markierten Antikörper und Substrat wird die jeweilige Bindung photometrisch nachgewiesen (EIA-Technik). Die Testbedingungen entsprechen denen des Prothrombin Gene Mutation Assay, nur das hier eine entsprechend andere Hybridisierungssonde verwendet wurde. (siehe Prothrombin (20210 G->A) Mutation Seite 42)

Verwendete Testreagenzkits: Lot.- Nummer: 01-SE-98-01

Verwendbar bis: 03-1999

2.4.2.3 MTHFR- Mutation

MTHFR Gene Mutation Assay, Vienna Lab Labordiagnostik GmbH, Austria
Testnachweissystem zur Genotypisierung der homozygoten oder heterozygoten MTHFR C677T- Mutation.

Die MTHFR C677T- Mutation gilt als ein kontrovers diskutierter Risikofaktor für thrombembolische Ereignisse (siehe Einleitung).

Testprinzip: Nach DNA Extraktion und Amplifikation werden die Amplifikate an zwei spezifisch markierte Sonden hybridisiert. Es kommt zu einer Bindung entweder

- nur des Wildtyps (homozygoter Zustand des Wildtyps) oder
- des Wildtyps und der Mutation (heterozygoter Zustand) oder
- nur der Mutation (homozygoter Zustand der Mutation).

Mit einem enzym- markierten Antikörper und Substrat wird die jeweilige Bindung photometrisch nachgewiesen (EIA-Technik). Die Testbedingungen entsprechen denen des Prothrombin Gene Mutation Assay, nur das hier eine entsprechend andere Hybridisierungssonde verwendet wurde. (siehe Prothrombin (20210 G->A) Mutation Seite 42)

Verwendete Testreagenzkits: Lot.- Nummer: 01-SE-98-05

Verwendbar bis: 03-1999

2.4.3 Datenerhebung und Statistische Auswertung

2.4.3.1 Datenerhebung

Die Daten zur Eigen- und Familienanamnese wurden von 2 Untersuchern anhand eines standardisierten Fragebogens in einem doppel-blinden Interview erhoben (siehe Erhebungsbogen Eigen- und Familienanamnese:). D.h. weder der Spender selbst, noch der Untersucher waren darüber informiert, ob beim Spender eine genetische Variation vorlag oder nicht. Die Patienten erklärten sich schriftlich mit der statistischen Auswertung der erhobenen Daten einverstanden (siehe Muster der Einwilligungserklärung). Die Daten wurden unmittelbar nach der Erhebung zur statistischen Auswertung in eine elektronische Datenbank aufgenommen und anonymisiert.

2.4.3.2 Prävalenz der Risikofaktoren und Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors

Zur Beschreibung der Prävalenzen wurden deskriptive Statistiken zur Ermittlung von Mittelwerten, Standardabweichungen, Median sowie Maximum und Minimum, benutzt.

Ein zweidimensionaler Vergleich von Häufigkeiten wurde mittels 2x2 Kreuztabellen durchgeführt. Nach der Regel von Cochran, wurde hier wenn möglich der Chi-Quadrat-Test verwendet. Der exakte Test nach Fischer kam bei geringer Fallzahl zur Anwendung, bzw. immer dann, wenn die Erwartungshäufigkeit für eine Zelle unter $n=5$ lag. Dabei wurden Häufigkeiten, Spalten- und Zeilensummen absolut und in Prozent angegeben. P-Werte unter 0,05 wurden als signifikant angesehen. Ein Teil dieser Ergebnisse wurde als gruppiertes Balkendiagramm graphisch dargestellt.

Das relative Risiko wurde mittels Risikoschätzer bestimmt, weiterhin wurde das 95%ige Konfidenzintervall (CI95%) ermittelt.

2.4.3.3 Laborwertevergleich

Auch bei der Analyse der gemessenen Laborwerte kamen deskriptive Statistiken zur Ermittlung von Mittelwert, Maximum- und Minimum-Wert sowie Standardabweichung zum Einsatz.

Zum Laborwertevergleich vor und nach Apherese wurde der T-Test für verbundene Stichproben benutzt. Zuvor wurde mittels des Levene-Tests die Varianzhomogenität überprüft. Mußte die Annahme gleicher Varianzen abgelehnt werden ($p < 0,05$), bzw. war sie zumindest fraglich ($p < 0,1$), so wurde im Falle des T-Tests die Version für ungleiche Varianzen gewählt. Bei der Verteilung der Variablen innerhalb einer Gruppe wurde eine Schiefe bis höchstens $|\gamma| = 0,4$ toleriert. Bei geringer Fallzahl wurde der Mittelwertevergleich mit dem nicht parametrischen Mann-Wilcoxon-U-Test für verbundene Stichproben durchgeführt. P-Werte unter 0,05 wurden als signifikant angesehen.

Zur Beschreibung der Änderung der Laborwerte in den einzelnen Untergruppen im Vergleich zur genetisch unauffälligen Kontrollgruppe kam, aufgrund der geringen Fallzahlen, der Mann-Wilcoxon-U-Test für unabhängige Stichproben zur Anwendung. P-Werte unter 0,05 wurden als signifikant angesehen. Beispielhaft wurde die Verteilung der Laborwerte mittels gruppierter Boxplot-Diagramme dargestellt.

Die statistischen Auswertungen wurden mit SPSS Version 9.1d und Microsoft EXCEL Version 7.0 durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Gesamtkollektiv

Es wurden konsekutiv 308 Spender (Blut- und Thrombozytenspender) bezüglich der PT G20210A-Mutation und der FV:Q506-Mutation sowie deren MTHFR-Status untersucht. Die Laborwerte für Protein S, Protein C, Antithrombin, Faktor II Aktivität und Fibrinogen wurden ebenfalls bestimmt (Tabelle 2).

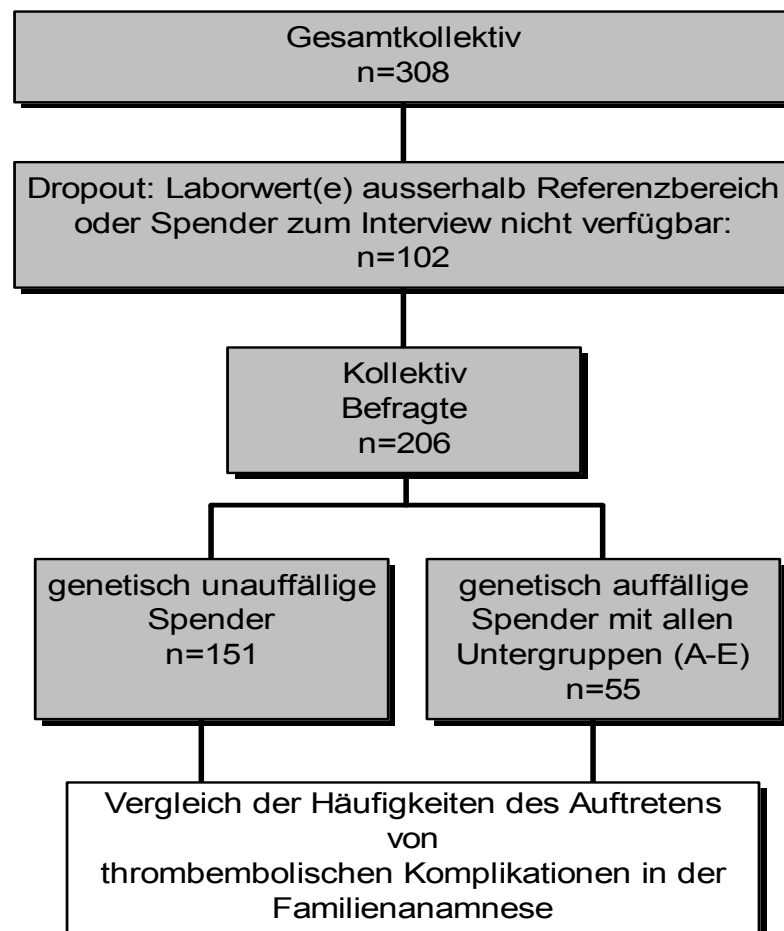


Abbildung7: Organigramm „Gesamtkollektiv und Kollektiv Befragte“ (Erläuterungen im Text)

Laborwert	Referenzbereich	Anzahl auffälliger Spender pro	
		Anzahl der Untersuchten *	
PTT pathologisch	32-40 sec	12/308	3,9%
Quick pathologisch	70-120 %	6/308	1,9%
Fibrinogen pathologisch	1,8-3,5 g/l	11/308	3,6%
Faktor II Erhöhung	70-120 %	12/308	3,9%
Antithrombin- Mangel	80-120 %	15/308	4,9%
Protein C- Mangel**	65-120 %	13/308	4,2%
Protein S- Mangel	60-120 %	3/308	1%
FV:Q506-Mutation heterozygot		28/308	9%
FV:Q506-Mutation homozygot		0/308	0%
PT G20210A-Mutation heterozygot		15/308	4,8%
PT G20210A-Mutation homozygot		0/308	0%
MTHFR C677T-Mutation heterozygot		108/308	35%
MTHFR C677T-Mutation homozygot		32/308	10,3%

Tabelle 2: Prävalenz der „Dropouts“ und der Risikofaktoren des Gesamtkollektivs

*Doppelnennung möglich **Typ I oder II

3.2 Kollektiv Befragte

Spender, deren Blutwerte außerhalb der zugrunde gelegten Referenzbereiche (Ein- und Ausschlusskriterien) der bestimmten Laborparameter (Tabelle 2) lagen, wurden von der Studie ausgeschlossen. Insgesamt wurden 62 Spender aufgrund der Laborwerte ausgeschlossen und 40 Spender mussten ausgeschlossen werden, da sie nicht zur Befragung zur Verfügung standen.

Auf diese Weise entstand ein Spenderkollektiv von n=206 Spendern (Kollektiv Befragte). 55 der Spender waren für die PT G20210A-Mutation oder die FV:Q506-Mutation heterozygot oder hatten eine homozygote MTHFR C677T-Variante. 6 der 55 auffälligen Spender hatten einen Kombinationsdefekt (Tabelle 3 und Tabelle 4). Die übrigen 151 Spender dienten als gesunde Kontrollgruppe.

Risikofaktor	Anzahl	
	Spender mit heterozygoter FV:Q506-Mutation	23/206
Spender mit heterozygoter PT G20210A-Mutation	13/206	6,3%
Spender mit homozygoter MTHFR C677T-Variante	25/206	12,1%
Spender mit der Kombination heterozygoter FV:Q506-Mutation/ heterozygoter PT G20210A-Mutation	3/206	1,5%
Spender mit der Kombination heterozygoter FV:Q506-Mutation/ homozygoter MTHFR C677T-Variante	2/206	1,0%
Spender mit der Kombination homozygoter MTHFR C677T-Variante/ heterozygoter PT G20210A-Mutation	1/206	0,5%
Spender mit einem oder mehreren Risikofaktoren	55/206	26,7%

Tabelle 3 : Prävalenz der Risikofaktoren des Kollektivs Befragte

55 von den 206 befragten Spendern hatten eine positive Familienanamnese für thrombembolische Ereignisse. Bei keinem der Spender wurde eine positive Eigenanamnese für Thrombembolien gefunden. Dies entspricht den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Auswahl von Blutspendern, nach denen Spender welche an Thrombosen leiden oder litten von der Spende auszuschließen sind.⁷⁸

	N	Median (Alter in Jahren)	Minimum (Alter in Jahren)	Maximum (Alter in Jahren)	Mittelwert (Alter in Jahren) und Standard- abweichung
Spender gesamt:	206 (100%)	33	36	61	36± 11,6
Spender mit genetischer Variation:*	55 (26,7%)	32	35	61	35± 11,4
genetisch unauffällige Spender	151 (73,3%)	33	37	61	37± 11,6
Frauen insgesamt:	70 (34%)	32	33	58	33± 10,0
Frauen mit genetischer Variation:*	18 (8,7%)	30,5	33	58	33± 10,3
genetisch unauffällige Frauen:	52 (25,2%)	32	33	57	33± 10,0
Männer insgesamt:	136 (66%)	34,5	38	61	38± 12,0
Männer mit genetischer Variation:*	37 (17%)	32	36	61	36± 11,9
genetisch unauffällige Männer:	99 (49%)	36	38,5	61	38,5± 12,1

Tabelle 4: Altersverteilung im Kollektiv Befragte

*heterozygote PT G20210A-Mutation/ FV:Q506-Mutation oder homozygote MTHFR C677T-Variante

3.3 Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors

Um festzustellen, inwieweit die einzelnen genetischen Variationen mit einer positiven Familienanamnese korrelieren, wurden die Spender in verschiedene Untergruppen unterteilt und jeweils mit der Kontrollgruppe verglichen: (Studiendesign/Zielsetzung)

- A. Spender mit mindestens einem genetischen Risikofaktor
- B. Spender mit heterozygoter FV:Q506-Mutation
- C. Spender mit heterozygoter PT G20210A-Mutation
- D. Spender mit homozygoter MTHFR C677T-Variante
- E. Spender mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation

Da für einige der Risikofaktoren die Bedeutung für arterielle Thrombosen noch umstritten ist, wurden alle Berechnungen unter Berücksichtigung von ausschließlich venösen Ereignissen in der Familienanamnese wiederholt. Dadurch kommt es zu keinen wesentlichen Änderungen der Ergebnisse.

3.3.1 A: Familienanamnese bei Spendern mit mindestens einem Risikofaktor

Von den Spendern, die für mindestens einen angeborenen Risikofaktor (Faktor V:Q506-Mutation, PT G20210A-Mutation, MTHFR 677TT-Variante) positiv waren, hatten 78,2% eine positive Familienanamnese gegenüber 7,9% bei den Spendern ohne einen angeborenen Risikofaktor ($p < 0,001$, OR 4,2, CI95% 2,6-7) (Tabelle 5).

		Familienanamnese			
		negativ	positiv	gesamt	
Risikofaktor	negativ	Anzahl	139	12	151
		%	92,1%	7,9%	100,0%
	positiv	Anzahl	12	43	55
		%	21,8%	78,2%	100,0%
Gesamt	Anzahl	151	55	206	
	%	73,3%	26,7%	100,0%	

Tabelle 5: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein mindestens eines Risikofaktors

3.3.1.1 Analyse nach Altersklassen

Betrachtet man unter den Spendern, die positiv für mindestens einen genetischen Risikofaktor (Faktor V:Q506-Mutation, PT G20210A-Mutation, MTHFR C677T-Variante) sind, diejenigen, deren Erstmanifestation einer Thrombose in der Familienanamnese vor dem 65. Lebensjahr liegt, dann findet man bei 65,5% der Spender eine positive Familienanamnese, während 1,3% der Spender ohne Risikofaktor eine auffällige Familienanamnese haben. Allerdings haben dann 34,5% der positiven Spender eine unauffällige Familienanamnese ($p < 0,001$, OR 2,8, CI95% 2,0-4,1).

Legt man die Grenze für die Erstmanifestation des thrombembolischen Ereignisses auf unter 60 Jahre, findet man noch bei 63,6% der Spender mit mindestes einem Risikofaktor eine positive Familienanamnese, während kein Spender ohne Risikofaktor eine positive Familienanamnese hat ($p < 0,001$, OR 2,7, CI95% 1,9-3,9) (Tabelle 6).

		Familienanamnese			
		negativ	positiv	gesamt	
Risikofaktor	negativ	Anzahl	151	0	151
		%	100%	0%	100,0%
	positiv	Anzahl	20	35	55
		%	36,4%	63,6%	100,0%
Gesamt	Anzahl	171	35	206	
	%	83,0%	17,0%	100,0%	

Tabelle 6: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <60 Jahre in Abhängigkeit vom Vorhandensein mindestens eines Risikofaktors

3.3.2 B: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-

Mutation

Auch bei den Spendern mit der FV:Q506-Mutation ist die unterschiedliche Verteilung bezüglich der positiven Familienanamnese sehr deutlich. 87% der heterozygoten Spender haben eine auffällige Familienanamnese gegenüber 19,1% bei den FV:Q506-Mutation negativen Spendern. ($p < 0,001$, OR 6,2, CI95% 2,2-17,9). (Tabelle 7)

		Familienanamnese			
		negativ	positiv	gesamt	
FV Q:506- Mutation	negativ	Anzahl	148	35	183
		%	80,9%	19,1%	100,0%
	heterozygot	Anzahl	3	20	23
		%	13,0%	87,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl	151	55	206	
	%	73,3%	26,7%	100,0%	

Tabelle 7: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins einer FV:Q506-Mutation

3.3.2.1 Analyse nach Altersklassen

Untersucht man nur die heterozygoten Spender, bei denen die Erstmanifestation in der Familienanamnese vor dem 65. Lebensjahr liegt, so sinkt der Anteil der FV Q:506-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese auf 9,8%, ohne dass sich der Anteil der heterozygoten Spender mit positiver Familienanamnese ändert ($p < 0,001$, OR 6,9, CI95% 2,4-20,0).

Legt man die Altersgrenze auf unter 60 Jahre, so verringert sich der Anteil der FV Q:506-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese auf 8,2% ($p < 0,001$, OR 7,0, CI95% 2,4-20,0). Reduziert man die Altersgrenze auf unter 55 Jahre, liegt der Anteil der FV Q:506-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese bei 7,1% ($p < 0,001$, OR 7,1, CI95% 2,5-20,1) (Tabelle 8). Eine weitere Verringerung dieses Anteils findet man, wenn man die Altersgrenze auf unter 50 Jahre legt. Dann sinkt der Anteil Heterozygoten mit negativer Familienanamnese auf 2,2%. Allerdings steigt der Anteil der Heterozygoten mit unauffälliger Familienanamnese auf 69,6% ($p < 0,001$, OR 1,4, CI95% 1,0-1,8).

		Familienanamnese			
		negativ	positiv	gesamt	
FV:Q506- Mutation	negativ	Anzahl	170	13	183
		%	92,9%	7,1%	100,0%
	heterozygot	Anzahl	3	20	23
		%	13,0%	87,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	173	33	206
		%	84,0%	16,0%	100,0%

Tabelle 8: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins einer FV:Q506-Mutation

3.3.3 C: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation

Ohne Altersselektion haben alle heterozygoten Spender eine positive Familienanamnese, gegenüber 21,8% der negativen Spender ($p < 0,001$, OR 0,2 CI95% 0,2-0,3) (Tabelle 9).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	gesamt
PT negativ	Anzahl	151	42	193	
	%	78,2%	21,8%	100,0%	
G20210A-Mutation heterozygot	Anzahl	0	13	13	
	%	0%	100,0%	100,0%	
Gesamt	Anzahl	151	55	206	
	%	73,3%	26,7%	100,0%	

Tabelle 9: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der PT G20210A-Mutation

3.3.3.1 Analyse nach Altersklassen

Analysiert man nur die heterozygoten Spender, bei denen die Erstmanifestation in der Familienanamnese vor dem 65. Lebensjahr liegt, so sinkt der Anteil der PT G20210A-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese von 21,8% auf 14%, während der Anteil der heterozygoten Spender mit negativer Familienanamnese auf 15,4% ansteigt ($p < 0,001$, OR 5,5, CI95% 1,5-20).

Bei einer Altersgrenze von 60 Jahren sinkt der Anteil der negativen Spender mit positiver Familienanamnese auf 12,4%, während der Anteil der heterozygoten Spender mit negativer Familienanamnese weiterhin bei 15,4% liegt ($p < 0,001$, OR 5,6 CI95% 1,6-20).

Geht man mit der Altersgrenze bis auf auf 55 Jahre herunter, lässt sich der Anteil der PT G20210A-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese sogar auf 11,4 reduzieren, während der Anteil der heterozygoten Spender mit negativer Familienanamnese weiterhin bei 15,4% liegt ($p < 0,001$, OR 5,7 CI95% 1,6-20) (Tabelle 10).

Bei einer Altersgrenze von 50 Lebensjahren sinkt der Anteil der PT G20210A-Mutation negativen Spender mit auffälliger Familienanamnese sogar auf 3,6%. Allerdings steigt der Anteil der heterozygoten Spender mit negativer Familienanamnese dann auf 69,2% an ($p < 0,001$, OR 1,3 CI95% 0,9-2,0).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	gesamt
PT negativ	Anzahl		171	22	193
	%		88,6%	11,4%	100,0%
G20210A- Mutation heterozygot	Anzahl		2	11	13
	%		15,4%	86%	100,0%
Gesamt	Anzahl		173	33	206
	%		84,0%	16,0%	100,0%

Tabelle 10: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der PT G20210A-Mutation

3.3.4 D: Familienanamnese bei Spendern mit homozygoter MTHFR 677TT-Variante

Vergleicht man die Prävalenz einer positiven Familienanamnese von Spendern, die homozygot für die MTHFR 677TT-Variante sind, mit den negativen, bzw. heterozygoten Spendern kommt man zu folgendem Ergebnis: $p < 0,001$, OR 1,9, CI95% 1,2-3,1 (Tabelle 11).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	gesamt
MTHFR C677T- Variante negativ/ heterozygot	Anzahl		141	40	181
	%		77,9%	22,1%	100,0%
homozygot	Anzahl		10	15	25
	%		40,0%	60,0%	100,0%
Gesamt	Anzahl		151	55	206
	%		73,3%	26,7%	100,0%

Tabelle 11: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der MTHFR 677TT-Variante

3.3.4.1 Analyse nach Altersklassen

Betrachtet man nur die Spender, die für die MTHFR 677TT-Variante homozygot sind und deren Erstmanifestation einer auffälligen Familienanamnese vor dem 65

Lebensjahr liegt, so findet man noch bei 40% der homozygoten Spender eine auffällige Familienanamnese ($p < 0,01$, OR 1,4, CI95% 1,0-1,9) (Tabelle 12).

Setzt man die Altersgrenze bei 60 Jahren (Erstmanifestationsalter), so sinkt der Anteil der homozygoten Spender mit positiver Familienanamnese auf 36% gegenüber 14,4% bei den negativen/heterozygoten Spendern ($p < 0,02$, OR 1,3 CI95% 1,0-1,8).

Senkt man die Altersgrenze auf 55 Jahre, haben noch 28% der MTHFR 677TT-Variante homozygoten Spender eine positiver Familienanamnese gegenüber 14,4% bei den negativen, bzw. heterozygoten. Dieses Ergebnis erreicht keine Signifikanz ($p = 0,088$, OR 1,2, CI95% 0,9-1,8).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	gesamt
MTHFR C677T- Variante	negativ/ heterozygot	Anzahl	153	28	181
		%	84,5%	15,5%	100,0%
	homozygot	Anzahl	15	10	25
		%	60,0%	40,0%	100,0%
Gesamt		Anzahl	168	38	206
		%	81,6%	18,4%	100,0%

Tabelle 12: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <65 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der MTHFR 677TT-Variante

3.3.5 E: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation

Im Folgenden sollen heterozygote Träger entweder der FV:Q506- oder aber der PT G20210A-Mutation untersucht werden.

Untersucht man diese Spendergruppe, so findet man bei 90,9% der heterozygoten Träger (FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation) eine auffällige Familienanamnese, während nur 14,5% der negativen Kontrollgruppe eine auffällige Familienanamnese aufweisen ($p < 0,001$, OR 9,4, CI95% 3,1-27,7) (Tabelle 13).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	Gesamt
PT G20210A/	negativ	Anzahl	148	25	173
		% von	85,5%	14,5%	100,0%
FV Q:506 Mutation	heterozygot	Anzahl	3	30	33
		% von	9,1	90,9%	100,0%
Gesamt		Anzahl	151	55	206
		% von	73,3%	26,7%	100,0%

Tabelle 13: Prävalenz von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit des Vorhandenseins der FV:Q506-Mutation und/oder PT G20210A-Mutation

3.3.5.1 Analyse nach Altersklassen

Bezieht man nur die Spender ein, bei denen die Erstmanifestation einer Thrombose in der Familienanamnese unter 65 Jahren liegt, so findet man bei 84,8% der heterozygoten Spender eine positive Familienanamnese gegenüber nur 5,8% bei den negativen Spendern ($p < 0,001$, OR 6,2 CI95% 2,7-14).

Legt man die Altersgrenze bei <60 Jahren fest, dann findet man bei 4% der FV:Q506-/PT G20210A-Mutation negativen Spender eine positive Familienanamnese, während 84,8% der FV:Q506-/PT G20210A-Mutation heterozygoten Spender eine auffällige Familienanamnese haben ($p < 0,001$, OR 6,3 CI95% 2,8-14,3).

Senkt man die Altersgrenze auf <55 Jahre, dann haben 84,8% der FV:Q506-/PT G20210A-Mutation heterozygoten Spender eine auffällige Familienanamnese, während 2,9% der negativen Spender eine positive Familienanamnese haben ($p < 0,001$, OR 6,4 CI95% 2,9-14,4) (Tabelle 14).

			Familienanamnese		
			negativ	positiv	gesamt
PT G20210A/	negativ	Anzahl	168	5	173
		% von	97,1%	2,9%	100,0%
FV Q:506 Mutation	heterozygot	Anzahl	5	28	33
		% von	15,2%	84,8%	100,0%
Gesamt		Anzahl	173	33	206
		% von	84%	16,0%	100,0%

Tabelle 14: Prävalenz von positiver Familienanamnese im Alter <55 Jahre in Abhängigkeit des Vorhandenseins der FV:Q506- und/oder PT G20210A-Mutation

Legt man die Altersgrenze auf unter 50 Jahre, verringert sich der Anteil der auffälligen Familienanamnesen unter den negativen Spendern auf 1,2%. Jedoch steigt der Anteil der heterozygoten Spender mit unauffälliger Familienanamnese auf 72,7% ($p < 0,001$, OR 1,35 CI95% 1,1-1,67).

3.4 Kollektiv Thrombozytapherese

Es werden bei den Thrombozytenspendern mit Risikofaktor (heterozygot für die PT G20210A-Mutation oder die FV:Q506-Mutation, bzw. homozygot für die MTHFR 677TT-Variante) verschiedene Gerinnungsparameter unter der Thrombozytapherese analysiert und mit denen der Kontrollgruppe verglichen (Kollektiv Thrombozytapherese: n=48).

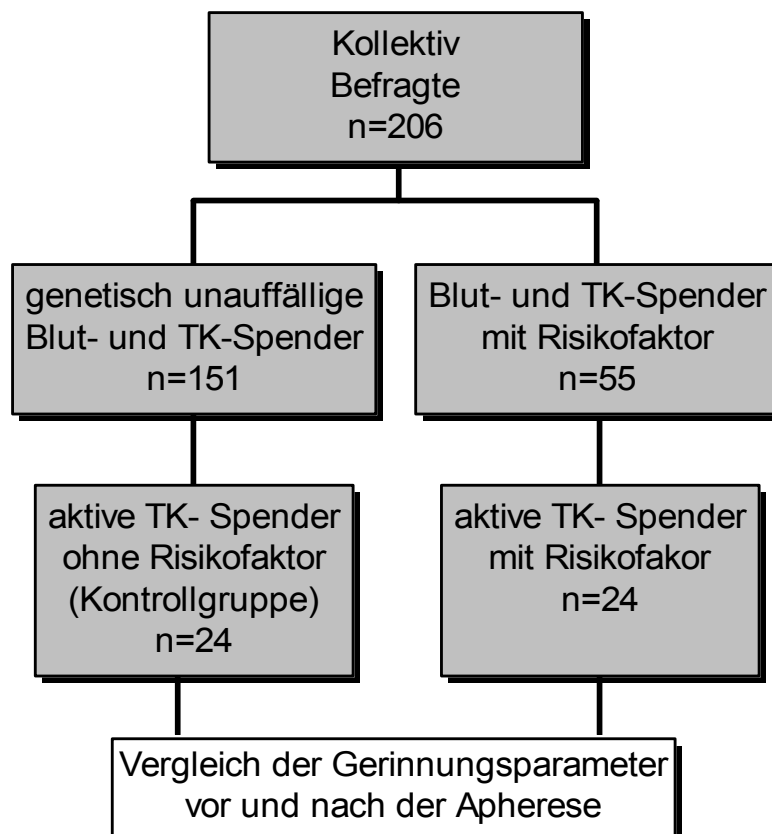


Abbildung 8 : Organigramm Kollektiv Thrombozytapherese

Dazu wurden alle aktiven, genetisch auffälligen Thrombozytenspender jeweils vor und nach der Apherese untersucht.

Insgesamt konnten 24 Thrombozytenspender mit Risikofaktor in die Studie aufgenommen werden. 4 dieser Spender hatten einen Kombinationsdefekt. Die Kontrollgruppe wurde geschlechts- und altersadaptiert (± 2 Jahre) zu der Gruppe genetisch auffälliger Spender gebildet (n=24) (Abbildung 8 und Tabelle 15).

Die Gerinnungsparameter der Spender mit Risikofaktor wurden mit der Kontrollgruppe verglichen. Weiterhin wurden Untergruppen gebildet und mit der Kontrollgruppe verglichen (siehe Datenerhebung und Statistische Auswertung).

Risikofaktor	Anzahl	% von 48
FV:Q506-Mutation heterozygot	13	27,1
PT G20210A-Mutation heterozygot	10	20,8
MTHFR 677TT-Variante homozygot	5	10,4
Kombination heterozygoter FV:Q506-Mutation/ heterozygoter PT G20210A-Mutation	3	6,3
Kombination heterozygoter FV:Q506-Mutation/ homozygoter MTHFR 677TT-Variante	1	2,1
Kombination homozygoter MTHFR 677TT-Variante/ heterozygoter PT G20210A-Mutation	0	0
gesamt	24	50

Tabelle 15: Aufteilung der genetisch auffälligen Spender im Spenderkollektiv Thrombozytapherese (n=48) nach vorliegender genetischer Variante

Spender	N %	Median (Alter in Jahren)	Minimum (Alter in Jahren)	Maximum (Alter in Jahren)	Mittelwert (Alter in Jahren) und Standardabweichung
Spender gesamt	48 (100%)	32	22	61	33± 9,7
Spender mit Risikofaktor*	24 (50%)	31	22	60	33± 9,4
genetisch unauffällige Spender	24 (50%)	33	22	61	34± 10,0
Frauen gesamt	16 (33,4%)	26	22	38	29 ± 5,6
Frauen mit Risikofaktor*	8 (16,7%)	26	22	38	29± 5,8
genetisch unauffällige Frauen	8 (16,7%)	29	23	37	29,5± 5,6
Männer gesamt	32 (66,6%)	34	22	61	36 ± 10,7
Männer mit Risikofaktor*	16 (33,3%)	31	24	60	35 ± 10,5
genetisch unauffällige Männer	16 (33,3%)	34	22	61	36 ± 10,9

Tabelle 16: Altersverteilung im Spenderkollektiv Thrombozytapherese

*heterozygot für die PT G20210A-Mutation oder die FV:Q506-Mutation bzw. homozygot für die MTHFR 677TT-Variante; Vorkommen der genetischen Varianten einzeln oder in Kombination

3.5 Untersuchung zur Auswirkung der Risikofaktoren auf das Gerinnungssystem von Thrombozytenspendern vor und nach der Apherese

3.5.1 Die Laborwerte vor und nach der Apherese

Unmittelbar vor Apherese finden sich folgende Laborwerte (Tabelle 17 bis Tabelle 22):

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert ± Standardabweichung
Quick %	24	89	125	105,5± 9,1
PTT Sekunden	24	33	39	35,3± 1,99
Fibrinogen g/l	22	1,7	3,2	2,5± 0,4
Faktor II Aktivität %	24	75	171	112,3± 27,7
Faktor V Aktivität %	22	50	162	107,5± 25,9
Faktor VIII Aktivität %	22	64	198	127± 37,5
Faktor XII Aktivität %	24	76	207	119± 29,6
Antithrombin Aktivität %	23	56	98	83± 12,1
APC- Resistenz	24	1,3	2,4	1,9± 0,3
Protein C %	24	85,8	170,7	115,5± 22,7
Protein S %	24	50,8	113,26	85,8± 14
TAT µg/l	24	0,71	5,2	1,3± 0,9
D-Dimere µg/l	24	101	983	450,7± 250,2

Tabelle 17: Laborwerte der genetisch auffälligen TK-Spender vor der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	13	96	113	105,2± 6,4
PTT Sekunden	13	33	38	35,4± 2,0
Fibrinogen g/l	11	1,7	3,2	2,5± 0,5
Faktor II Aktivität %	11	77	156	106,3± 23,8
Faktor V Aktivität %	11	91	160	114,5± 21
Faktor VIII Aktivität %	13	71,9	180,4	133,4± 38,7
Faktor XII Aktivität %	13	76	207	114,6± 32,1
Antithrombin Aktivität %	13	63	96	83,3± 10,5
APC- Resistenz	13	1,3	2,3	1,65± 0,2
Protein C %	13	85,8	170,7	119,4± 26
Protein S %	13	63,3	100,3	86,6± 10,5
TAT µg/l	13	0,9	5,2	1,6± 1,1
D-Dimere µg/l	13	101	983	420,3± 276,7

Tabelle 18: Laborwerte der Spender mit heterozygoter FV:Q506- Mutation vor der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	10	89	125	105,2± 11,2
PTT Sekunden	10	33	38	34,6± 1,7
Fibrinogen g/l	10	1,9	3,1	2,5± 0,4
Faktor II Aktivität %	10	86	171	126,9± 24,7
Faktor V Aktivität %	10	50	160	108,2± 27,1
Faktor VIII Aktivität %	10	64	198	135,5± 36,8
Faktor XII Aktivität %	10	90	156	117,8± 22,8
Antithrombin Aktivität %	10	56	98	87,4± 14,5
APC- Resistenz	10	1,3	2,4	2,1± 0,4
Protein C %	10	90,7	144,8	116,3± 20,1
Protein S %	10	50,8	101,6	83,3± 16
TAT µg/l	10	0,81	2	1,3± 0,4
D-Dimere µg/l	10	219	787	468,2± 178

Tabelle 19: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- Mutation vor der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	20	89	125	105,6± 8,6
PTT Sekunden	20	33	38	35± 1,9
Fibrinogen g/l	18	1,7	3,2	2,5± 0,4
Faktor II Aktivität %	18	77	171	113,4± 26,2
Faktor V Aktivität %	18	50	160	108,8± 22,5
Faktor VIII Aktivität %	20	64	198	131,8± 38,9
Faktor XII Aktivität %	20	76	207	115,4± 29,6
Antithrombin Aktivität %	20	56	98	83,9± 12,6
APC- Resistenz	20	1,3	2,4	1,9± 0,4
Protein C %	20	85,8	170,7	116,8± 23,9
Protein S %	20	50,8	101,64	84,8± 13,1
TAT µg/l	20	0,81	5,2	1,5± 1
D-Dimere µg/l	20	101	983	424,8± 233,4

Tabelle 20: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- und/oder heterozygoter FV:Q506- Mutation vor der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	5	93	119	105,6± 11,2
PTT Sekunden	5	34	39	37± 2
Fibrinogen g/l	4	2,1	2,8	2,5± 0,4
Faktor II Aktivität %	4	75	162	107,3± 38
Faktor V Aktivität %	4	66	162	101,8± 42
Faktor VIII Aktivität %	5	76,4	122,6	101,4± 20,5
Faktor XII Aktivität %	4	99	155	132,5± 26,3
Antithrombin Aktivität %	5	71	92	80,6± 8,7
APC- Resistenz	4	1,6	2,2	2± 0,3
Protein C %	5	89,8	124,6	111,5± 15,5
Protein S %	5	69,8	113,26	89,7± 16,9
TAT µg/l	5	0,71	5,2	0,9± 0,16
D-Dimere µg/l	5	113	874	515,6± 320

Tabelle 21: Laborwerte der Spender mit homozygoter MTHFR C677T- Mutation vor der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	24	80	121	105,6± 11
PTT Sekunden	24	33	40	34,9± 2,5
Fibrinogen g/l	21	1,9	3,8	2,6± 0,4
Faktor II Aktivität %	21	80	146	102,3± 16,7
Faktor V Aktivität %	21	58	251	116,4± 42,4
Faktor VIII Aktivität %	23	48,9	213,7	122,8± 38,4
Faktor XII Aktivität %	24	75	161	117,9± 24,9
Antithrombin Aktivität %	24	67	100	81,7± 9,2
APC- Resistenz	24	2	3	2,2± 0,2
Protein C %	24	76,10	161	109,8± 17,4
Protein S %	24	64,3	126,2	89,2± 12,5
TAT µg/l	24	,56	7,9	1,6± 1,5
D-Dimere µg/l	24	101	1127	528,4± 333,9

Tabelle 22: Laborwerte der Kontrollgruppe vor der Apherese

Unter der Apherese kommt es bei allen Spendern zu signifikanten Veränderungen verschiedener Gerinnungsparameter. Nach der Apherese finden sich folgende Laborwerte (Tabelle 23 bis Tabelle 28):

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	24	83	115	97± 9,2
PTT Sekunden	24	33	43	37,3± 3
Fibrinogen g/l	23	1,1	2,9	2,1± 0,5
Faktor II Aktivität %	23	58	180	101,2± 26,5
Faktor V Aktivität %	21	49	130	92± 19,2
Faktor VIII Aktivität %	24	56	92	69,7± 9,9
Faktor XII Aktivität %	23	42	124	85,5± 23,4
Antithrombin Aktivität %	24	56	92	69,9±9,9
APC- Resistenz	22	1,5	2,5	1,9± 0,3
TAT µg/l	24	1	18,7	6,6± 4,7
D-Dimere µg/l	24	101	587	244,4± 144,8

Tabelle 23 : Laborwerte der genetisch auffälligen TK-Spender nach der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	13	83	109	97,2± 9,1
PTT Sekunden	13	33	41	37,5± 2,4
Fibrinogen g/l	13	1,1	2,6	2± 0,5
Faktor II Aktivität %	13	58	180	97,1± 30,9
Faktor V Aktivität %	11	65	130	94,5± 17,8
Faktor VIII Aktivität %	13	56,1	125	85,8± 25,9
Faktor XII Aktivität %	13	42	111	82,8± 20,6
Antithrombin Aktivität %	13	57	91	69,5± 9,4
APC- Resistenz	12	1,5	2,1	1,7± 0,2
TAT µg/l	13	1	11,4	5,6± 3,3
D-Dimere µg/l	13	101	587	228,5± 172,7

Tabelle 24: Laborwerte der Spender mit heterozygoter FV:Q506- Mutation nach der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	10	83	115	96,4± 10,5
PTT Sekunden	10	33	43	36,9± 2,8
Fibrinogen g/l	10	1,9	2,9	2,3± 0,4
Faktor II Aktivität %	10	72	180	110,6± 30,1
Faktor V Aktivität %	9	49	112	90,3± 21,2
Faktor VIII Aktivität %	10	59,6	117,8	88,6± 20,3
Faktor XII Aktivität %	9	44	124	92± 22,9
Antithrombin Aktivität %	10	56	92	73,7± 12,3
APC- Resistenz	10	1,5	2,5	2± 0,4
TAT µg/l	10	4,6	18,8	9,6± 5,1
D-Dimere µg/l	10	127	587	314± 138,7

Tabelle 25: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- Mutation nach der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	20	83	115	97,4± 9,7
PTT Sekunden	20	33	43	37,3± 2,6
Fibrinogen g/l	20	1,1	2,9	2,1± 0,5
Faktor II Aktivität %	20	58	180	100,6± 27,3
Faktor V Aktivität %	18	49	130	92,2± 19,5
Faktor VIII Aktivität %	20	56,1	125	86,3± 24,1
Faktor XII Aktivität %	19	42	124	84,8± 22,6
Antithrombin Aktivität %	20	56	92	70,8± 10,5
APC- Resistenz	19	1,5	2,5	1,9± 0,3
TAT µg/l	20	1	18,8	7,4± 4,7
D-Dimere µg/l	20	101	587	247,8± 154,4

Tabelle 26: Laborwerte der Spender mit heterozygoter PT G20210A- und/oder FV:Q506- Mutation nach der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	5	89	102	96,6± 7
PTT Sekunden	5	36	41	38,6± 2,5
Fibrinogen g/l	4	1,1	2,4	2± 0,6
Faktor II Aktivität %	4	90	136	113,3± 25,2
Faktor V Aktivität %	4	68	130	100,8± 26,1
Faktor VIII Aktivität %	5	56,1	206	98,6± 62,1
Faktor XII Aktivität %	5	46	118	87,8± 26,6
Antithrombin Aktivität %	5	59	73	66,4± 5,7
APC- Resistenz	4	1,6	2,4	2,1± 0,3
TAT µg/l	5	1	4,1	2,33± 1,6
D-Dimere µg/l	5	101	307	202,4± 98,4

Tabelle 27: Laborwerte der Spender mit homozygote MTHFR C677T- Mutation nach der Apherese

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert± Standardabweichung
Quick %	24	74	111	97,1± 9,5
PTT Sekunden	24	33	43	37,3± 3
Fibrinogen g/l	22	0,9	3	2,1± 0,6
Faktor II Aktivität %	22	69	134	92,9± 26,8
Faktor V Aktivität %	19	50	159	90,1± 31,4
Faktor VIII Aktivität %	22	35,6	149,9	81,8± 28,3
Faktor XII Aktivität %	22	72	133	95± 30,6
Antithrombin Aktivität %	24	55	90	68± 8,1
APC- Resistenz	23	2	2,4	2,2± 0,1
TAT µg/l	24	1,1	33,1	8,4± 9,2
D-Dimere µg/l	23	101	802	286,6± 179

Tabelle 28: Laborwerte der Kontrollgruppe nach der Apherese

3.5.2 Vergleich der Laborparameter zwischen den Gruppen vor bzw. nach der Apherese

Vergleicht man die einzelnen Spendergruppen jeweils mit der Kontrollgruppe, finden sich sowohl vor als auch nach der Apherese kaum signifikante Unterschiede bezüglich der absoluten Laborwerte.

Ausnahmen sind die Faktor II Aktivität, welche vor der Apherese in der Spendergruppe der PT G20210A-Mutation Heterozygoten versus der Kontrollgruppe deutlich erhöht ist ($p=0,001$) und die APC-Resistenz, welche in den Spendergruppen mit mindestens einem Risikofaktor, mit heterozygoter FV:Q506-Mutation und der Gruppe mit FV:Q506- und/oder PT G20210A-Mutation sowohl vor als auch nach der Apherese im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich vermindert ist ($p=0,001$ Tabelle 29 und Tabelle 30).

Laborwert \ Gruppe	mindestens ein Risikofaktor (p-Wert)	FV:Q506-Mutation (p-Wert)	PT G20210A-Mutation (p-Wert)	MTHFR 677TT-Variante (p-Wert)	FV:Q506- und/oder PT G20210A-
Quick %	0,33	0,56	0,36	0,66	0,56
PTT Sekunden	0,24	0,31	0,24	0,71	0,75
Fibrinogen g/l	0,34	0,62	0,43	0,35	0,46
Faktor II Aktivität %	0,16	0,84	<0,02	0,38	0,15
Faktor V Aktivität %	0,41	0,78	0,71	0,85	0,63
Faktor VIII Aktivität %	0,67	0,35	0,33	0,65	0,31
Faktor XII Aktivität %	0,89	0,55	0,92	0,83	0,50
Antithrombin Aktivität %	0,66	0,72	0,11	0,94	0,41
APC- Resistenz	<0,01	<0,01	0,52	0,76	<0,01
TAT µg/l	0,53	0,68	0,48	0,11	0,90
D-Dimere µg/l	0,36	0,32	0,79	0,81	0,20

Tabelle 29: P-Werte zu den Vergleichen der einzelnen Gruppen mit der Kontrollgruppe vor der Apherese

Laborwert \ Gruppe	mindestens ein Risikofaktor (p-Wert)	FV:Q506-Mutation (p-Wert)	PT G20210A-Mutation (p-Wert)	MTHFR 677TT-Variante (p-Wert)	FV:Q506- und/oder PT G20210A-
Quick %	0,53	0,46	0,69	0,52	0,58
PTT Sekunden	0,44	0,37	0,71	0,61	0,71
Fibrinogen g/l	0,61	0,45	0,44	0,27	0,97
Faktor II Aktivität %	0,31	0,98	0,07	0,20	0,45
Faktor V Aktivität %	0,81	0,60	0,92	0,46	0,81
Faktor VIII Aktivität %	0,36	0,97	0,77	0,34	0,95
Faktor XII Aktivität %	0,24	0,25	0,82	0,66	0,26
Antithrombin Aktivität %	0,51	0,81	0,07	0,51	0,23
APC- Resistenz	<0,01	<0,01	0,47	0,99	<0,01
TAT µg/l	0,37	0,31	0,32	0,09	0,89
D-Dimere µg/l	0,38	0,34	0,28	0,36	0,53

Tabelle 30: P-Werte zu den Vergleichen der einzelnen Gruppen mit der Kontrollgruppe nach der Apherese

3.5.3 Vergleich der Laborparameter innerhalb der einzelnen Gruppen vor und nach Apherese

Sowohl in der Gesamtgruppe als auch innerhalb der meisten Untergruppen (FV:Q506-Mutation heterozygote, FV:Q506- und oder PT G20210A-Mutation heterozygote, sowie Spender mit mindestens einem Risikofaktor) findet sich nach der Apherese eine signifikante Abnahme der Konzentration von Antithrombin, D-Dimeren, Fibrinogen, Faktor V, Faktor VIIIa und Faktor XII sowie eine Verminderung des Quick- Wertes (Tabelle 31).

Für Thrombin/Antithrombin-Komplexe (TAT) lässt sich eine signifikante Zunahme unter der Apherese nachweisen, ebenso kommt es zu einer Verlängerung der PTT (Tabelle 31)

Für die Faktor II Aktivität und die APC Resistenz zeigen sich keine signifikanten Unterschiede vor und nach der Spende (Tabelle 31).

Laborwert	Gruppe	Alle Spender	mindestens ein Risikofaktor (p-Wert)	FV:Q506- Mutation (p-Wert)	PT G20210A- Mutation (p-Wert)	MTHFR 677TT- Mutation	FV:Q506- und/oder PT G20210A- Mutation (p-Wert)
Quick %		<0,01	<0,01	<0,02	<0,05	0,28	<0,01
PTT Sekunden		<0,01	<0,01	<0,03	0,06	0,31	<0,01
Fibrinogen g/l		<0,01	<0,01	<0,02	0,26	0,18	<0,01
Faktor II Aktivität %		0,11	0,17	0,43	0,21	0,8	0,14
Faktor V Aktivität %		<0,01	<0,03	<0,03	0,13	0,96	<0,03
Faktor VIII Aktivität %		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,92	<0,01
Faktor XII Aktivität %		<0,01	<0,01	<0,01	<0,02	<0,04	<0,01
Antithrombin Aktivität %		<0,01	<0,01	<0,01	<0,03	<0,02	<0,01
APC- Resistenz		0,89	0,75	0,87	0,95	0,75	0,86
TAT µg/l		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,91	<0,01
D-Dimere µg/l		<0,01	<0,01	<0,04	<0,05	0,07	<0,01

Tabelle 31: P-Werte zu den Vergleichen der Laborparameter vor- nach Apherese innerhalb der Gesamt- und Untergruppen

3.5.4 Vergleich der Veränderung der Laborwerte vor versus nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Veränderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe

Untersucht man, wie sich die Veränderungen der Laborparameter bei Trägern der jeweiligen Mutationen (FV:Q506- und PT G20210A-Mutation heterozygot, MTHFR 677TT-Variante homozygot) gegenüber den Veränderungen in der Kontrollgruppe verhalten, findet man für für Thrombin/Antithrombin- Komplexe (TAT), Fibrinogen und Faktor V Aktivität unter den Trägern der Faktor V:Q506 und PT G20210A Mutation signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe. In der Gruppe der MTHFR 677TT Homozygoten finden sich keinerlei Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe (Tabelle 32).

Laborwert \ Gruppe	mindestens ein Risikofaktor (p-Wert)	FV:Q506- Mutation (p-Wert)	PT G20210A- Mutation (p-Wert)	MTHFR 677TT- Variante (p-Wert)	FV:Q506- und/oder PT G20210A- Mutation (p-Wert)
Quick %	0,81	0,62	0,35	0,36	0,51
PTT Sekunden	0,91	0,43	0,66	0,37	0,31
Fibrinogen g/l	0,93	0,39	0,05	0,58	0,93
Faktor II Aktivität %	0,27	0,42	0,21	0,94	0,23
Faktor V Aktivität %	0,10	0,04	0,32	0,71	0,06
Faktor VIII Aktivität %	0,93	0,37	0,35	0,16	0,43
Faktor XII Aktivität %	0,31	0,34	0,98	0,30	0,53
ATIII Aktivität %	0,63	0,79	0,80	0,91	0,58
APC- Resistenz	0,90	0,76	0,66	0,44	0,88
TAT µg/l	0,59	0,86	0,04	0,23	0,23
D-Dimere µg/l	0,59	0,52	0,80	0,25	0,34

Tabelle 32: Vergleich der Veränderung der Laborparameter vor- nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Veränderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe (P- Werte):

Thrombin/Antithrombin-Komplex und Fibrinogen bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation

In der Gruppe der heterozygoten Träger der PT G20210A-Mutation ist die Zunahme der Thrombin/Antithrombin-Komplexe unter Apherese signifikant deutlicher ausgeprägt als in der Kontrollgruppe ($p = 0,037$, Abbildung 9).

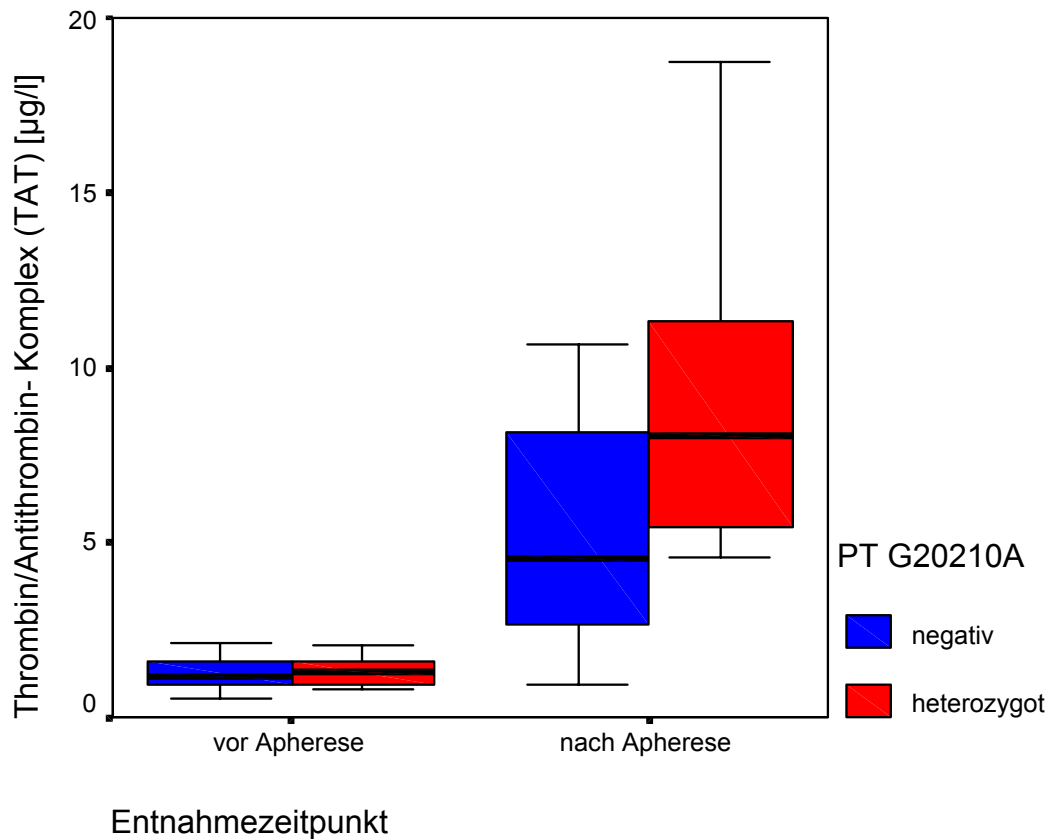


Abbildung 9 : TAT in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten PT G20210A-Mutation.

In der gleichen Gruppe ist die Abnahme der Fibrinogenkonzentration nach Clauss durch die Apherese signifikant geringer als in der Kontrollgruppe ($p = 0,05$, Abbildung 10).

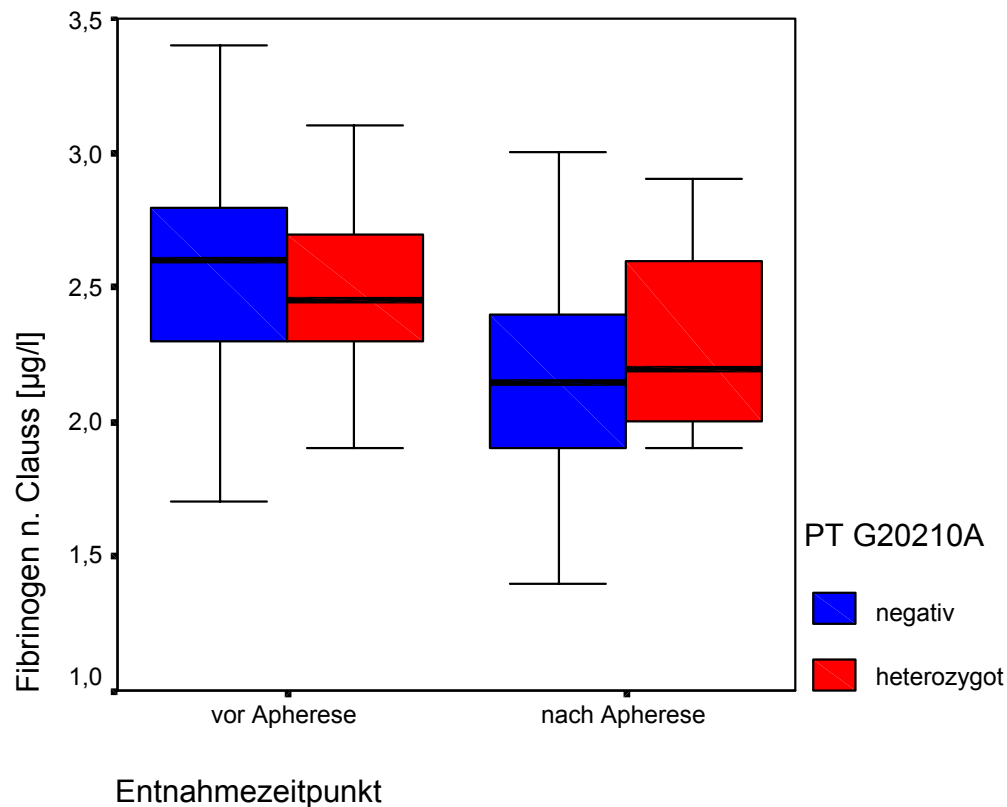


Abbildung 10 : Fibrinogen in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten PT G20210A-Mutation.

Faktor V Aktivität bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506 Mutation

Bei den Spendern, die heterozygote Träger der Faktor V:506-Mutation sind, zeigt sich eine deutlich schwächere Abnahme der Faktor V Aktivität unter der Apherese ($p=0,026$) als in der Kontrollgruppe (Abbildung 11).

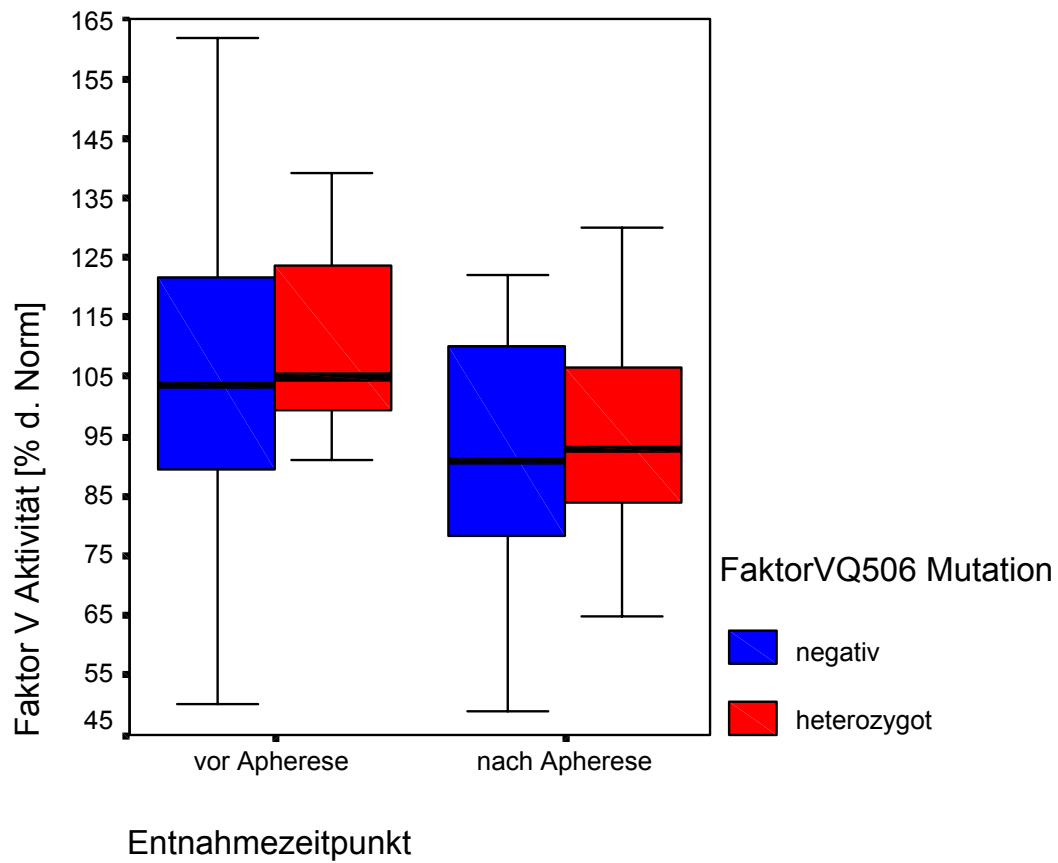


Abbildung 11: Faktor V Aktivität in Abhängigkeit von Entnahmezeitpunkt und Vorliegen der heterozygoten FV:Q506-Mutation.

4. Diskussion

4.1 Gesamtkollektiv

Die Prävalenz der einzelnen Risikofaktoren im Gesamtkollektiv weicht zum Teil von der beschriebenen Prävalenz in der Gesamtbevölkerung in Norddeutschland erheblich ab. Von Depka et al. beschreiben in einem Kollektiv 235 Blutspendern eine Prävalenz von 44% heterozygoter Träger der MTHFR C677T-Variante gegenüber den 35% im untersuchten Spenderkollektiv. Mit 7% heterozygoter Träger decken sich die Ergebnisse von v. Depka et al.⁷⁹ bezüglich der FV:Q506-Mutation weitgehend mit den hier gefundenen 9%. Für die PT G20210A-Mutation fällt die Prävalenz in der Gesamtbevölkerung mit nur 2,6% deutlich geringer aus als in dem hier beschriebenen Gesamtkollektiv (4,8%).⁷⁹

Der hohe Anteil an Thrombozytenspendern (n=104) in diesem Gesamtkollektiv legt die Vermutung nahe, dass die Blutbankinternen Einschluss- beziehungsweise Ausschlusskriterien für Thrombozytenspender im Gegensatz zu Vollblutspendern, die Ursache der von v. Depka et al.⁷⁹ abweichenden Prävalenzen sind. So werden z.B. Spender mit beeinträchtigter Thrombozytenfunktion (z.B. durch Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern) oder zu geringer Thrombozytenzahl (vor der Apherese <140 000/ μ l) von der Spende ausgeschlossen. Assoziationen der genannten Risikofaktoren mit geringen, bzw. hohen Thrombozytenzahlen sind allerdings nicht bekannt. Da für die Blutbank auch die Thrombozytenausbeute pro Apherese ein wichtiges Auswahlkriterium ist (insbesondere bei der sogenannten „large volume thrombozytapheresis“), wäre auch denkbar, dass aufgrund einer vermehrten Aggregatbildung bei bestimmten Spendern, die Ausbeute geringer ausfällt und zum Ausschluss von einer Spende führt.

Auch ist zu beachten, dass für Thrombozytenspender oft bestimmte Blutgruppen bevorzugt werden. Über Assoziationen der in dieser Arbeit beschriebenen genetischen Risikofaktoren mit einzelnen Blutgruppen sind nur wenige Daten vorhanden, welche aber zumindest eine Assoziation mit der FV:Q506-Mutation möglich erscheinen lassen.⁸⁰⁻⁸²

Da in dieser Arbeit die Blutgruppen der Spender nicht analysiert wurden, bleibt die Ursache für die von der Gesamtbevölkerung abweichende Prävalenz im Spenderkollektiv letztlich spekulativ.

4.2 Kollektiv Befragte

Die Tatsache, dass keiner der befragten Blutspender eine positive Eigenanamnese hatte, erklärt sich durch die konsequente Anwendung der Richtlinien der Bundesärztekammer zur Auswahl von Blutspendern.⁷⁸

4.3 Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors

Die Ergebnisse der Auswertung der Familienanamnesen der untersuchten Spender konnte sehr deutlich zeigen, dass große Unterschiede zwischen den einzelnen Risikoträgergruppen (heterozygote Träger der FV:Q506-Mutation, der PT G20210A-Mutation oder homozygote Träger der MTHFR 677TT-Variante) und der Kontrollgruppe bestehen.

Da hereditäre Risikofaktoren der Thrombembolie primär zu juveniler Thrombophilie prädisponieren,^{83,6,15,20,25,84} wurde der Einfluß des Erstmanifestationsalters durch Bildung von Altersklassen untersucht.

Diese Unterschiede sind bei bestimmten Risikogruppen (Gruppe A-E, Ergebnisteil) sogar so ausgeprägt, dass es möglich ist, nur anhand der Familienanamnese einen Großteil der Risikoträger zu erkennen und gegebenenfalls von der Spende auszuschließen, ohne gleichzeitig zu viele gesunde Spender mit auszuschließen.

Bei der Bewertung der Kreuztabellen können also zwei unterschiedliche, unerwünschte Aspekte unterschieden werden: Ein „medizinischer“ Aspekt (führt zum Einschluss von Risikofaktorträgern mit negativer Familienanamnese) und ein „ökonomischer“ Aspekt (führt zum Ausschluss von gesunden Spendern mit positiver Familienanamnese). Diese Aspekte sollten nicht gleich gewichtet werden, da für die Träger der genetischen Risikofaktoren die Folgen der Apherese nicht sicher beurteilt werden können: Wird durch die Familienanamnese ein großer

Anteil an falsch negativen Spendern (Spender mit Risikofaktor und negativer Familienanamnese) zur Spende zugelassen, ist dies als ungünstiger zu bewerten, da es unter der Apherese zu deutlich unterschiedlichen Änderungen im Gerinnungssystem der Spendergruppen kommt, was potentiell klinische Relevanz haben kann (s.u.). Die wirtschaftlichen Folgen für die Blutbank durch die, aufgrund eines Ausschlusses von falsch positiven Spendern notwendige Mehruntersuchung von Spendern, sind vergleichsweise gering zu bewerten, da lediglich ein größeres Spenderkollektiv befragt werden muß.

4.3.1 A :Familienanamnese bei Spendern mit mindestens einem genetischen Risikofaktor

Nimmt man keine Differenzierung nach einzelnen Genvarianten und Altersklassen vor, sind zwar signifikante Unterschiede zwischen den Spendern mit und ohne Risikofaktor erkennbar. Da jedoch mit Hilfe der Familienanamnese 21,8% der Spender mit Risikofaktor nicht erfasst werden, erscheint die allgemeine Familienanamnese allein als Ausschlusskriterium nicht auszureichen.

Eine Analyse nach Altersklassen bringt in dieser Gruppe keine Verbesserung, da zwar der Anteil der Spender ohne Risikofaktor mit positiver Familienanamnese auf 0% reduziert werden kann, gleichzeitig aber der Anteil der Heterozygoten mit negativer Familienanamnese auf 36,4% ansteigt (zu viele falsch Negative).

4.3.2 B. Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-Mutation

Anhand einer positiven Familienanamnese werden 87% der heterozygoten Spender erfasst, unter gleichzeitigem Ausschluss von 19,1% der genetisch unauffälligen Spender.

Reduziert man die Altersgrenze in der Familienanamnese auf unter 55 Lebensjahre, schliesst man weiterhin 87% der heterozygoten Spender aus, und der Anteil der ausgeschlossenen, genetisch unauffälligen Spender verringert sich auf 7,1%. Der „ökonomische Aspekt“ verbessert sich also deutlich. In dieser Spendergruppe ist es eindeutig vorteilhaft, nach Altersklassen zu unterscheiden.

4.3.3 C. Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation

Bei den Spendern mit PT G20210A-Mutation lassen sich anhand der Familienanamnese alle heterozygoten Spender herausfinden, allerdings unter Einschluß von 21,8% der genetisch unauffälligen Spender. Dieser Anteil lässt sich aber unter Begrenzung des Alters bei Erstmanifestation einer Thrombose in der Familienanamnese auf unter 55 Jahre auf 11,4% senken. Da gleichzeitig der Anteil der heterozygoten Spender mit negativer Familienanamnese auf 15,4% ansteigt, muss in diesem Fall abgewogen werden, ob es sinnvoll ist, nach Altersklassen zu unterscheiden.

4.3.4 D. Spender mit homozygoter MTHFR 677TT-Variante

Bei den Spendern mit MTHFR 677TT-Variante sind die Unterschiede nicht ganz so deutlich ausgeprägt: So findet man bei 60% der homozygoten Träger eine positive Familienanamnese gegenüber 22,1% bei den genetisch unauffälligen Spendern.

Bei dieser Spendergruppe führt eine Altersgrenze bei Erstmanifestation eines thrombembolischen Ereignisses nicht zu einer schärferen Trennung zwischen der Risiko- und der Kontrollgruppe.

4.3.5 E. Spender mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation

Besonders deutlich wird die Unterscheidung zwischen Spendern mit FV:Q506- /PT G20210A-Mutation und der unauffälligen Kontrollgruppe: Hier zeigen 90,9% der Spender der Risikogruppe eine auffällige Familienanamnese gegenüber 14,5% der genetisch unauffälligen Spender.

Setzt man in dieser Gruppe die Altersgrenze in der Familienanamnese auf unter 55 Jahre, so werden noch 84,7% der heterozygoten Spender erfasst, während nur noch 2,9% der unauffälligen Spender mit eingeschlossen werden.

4.3.6 Zusammenfassung zum Vergleich der Häufigkeit von positiver Familienanamnese in Abhängigkeit vom Vorhandensein eines Risikofaktors

Die Ergebnisse zeigen, dass es möglich ist, den Großteil (84,8%) der heterozygoten Träger sowohl der PT G20210A-Mutation als auch der FV:Q506-Mutation anhand der gezielten Erhebung der Familienanamnese zu erkennen, ohne dabei zu viele genetisch unauffällige Spender (2,9%) ungerechtfertigterweise mit zu erfassen und damit ggf. von einer Spende auszuschließen.

Die Erhebung der Familienanamnese scheint also ein praktikables Mittel für die Erkennung der beschriebenen genetischen Variationen zu sein, insbesondere dann, wenn man Spender/innen betrachtet, die entweder heterozygot für die FV:Q506-Mutation oder für die PT G20210A-Mutation sind. Zur Erfassung der homozygoten MTHFR 677TT-Variante ist die Familienanamnese nicht geeignet, da sie in dieser Gruppe nicht zu einer anwendbaren Trennung von homozygoten und negativen Spendern führt.

Die deutlichen Unterschiede zwischen Kontrollgruppe und den Spendern mit heterozygoter FV:Q506- und/oder PT G20210A-Mutation stützen deren allgemein anerkannte Bedeutung für die Entwicklung von thrombembolischen venösen und arteriellen Komplikationen.^{1,11,16,18-22,24,26,27,29,83,85-94} Ebenso konnte die von vielen Autoren postulierte geringe Auswirkung der homozygoten MTHFR 677TT-Variante hinsichtlich des Risikos, eine Thrombose zu entwickeln,^{36,95,96} bestätigt werden. Auch macht in dieser Gruppe eine Altersstratifizierung keinen Sinn.

4.4 Untersuchung der Auswirkung der genetischen Variationen auf das Gerinnungssystem der Thrombozytenspender während der Apherese

4.4.1 Die Laborwerte vor und nach der Apherese

Betrachtet man die vor der Apherese gemessenen Laborwerte, ist festzustellen, dass diese erwartungsgemäß sowohl bei den Spendern mit als auch ohne Risikofaktor weitgehend im jeweiligen Normbereich liegen. Geringfügig über die Norm erhöhte Werte fanden sich in der Gesamtgruppe bei einigen Spendern für die Faktor VIII Aktivität (im Mittel 125%) sowie in der Kontrollgruppe und der Gruppe der MTHFR 677TT-Variante homozygoten Spender für D-Dimere ($>500\mu\text{g/l}$).

Erhöhte Werte für Faktor II fanden sich bei Spendern mit PT G20210A- Mutation. Eine erniedrigte APC-Resistenz-Ratio konnte bei Spendern mit FV:Q506- Mutation nachgewiesen werden.

Ein Grund für die erhöhte Faktor VIII Konzentration könnten bei den betroffenen Spenderinnen die Einnahme von Ovulationshemmern sein.⁵⁰ Daten zur Einnahme von Ovulationshemmern liegen jedoch nicht vor. Insbesondere ist aber auch an psychischen Stress als Folge z.B. der Blutentnahme zu denken,³⁸ was auch die Gesamtgruppe und nicht nur eine Subgruppe trifft. Andere Ursachen wie Akutphasen-Situationen (z.B. Entzündungen, etc.) sind aufgrund des besonders überwachten Spenderkollektivs eher unwahrscheinlich.

Der wahrscheinlichste Grund liegt aber in einer falschen Annahme herkömmlicher Normbereiche, da deutlich höhere Normwerte vorkommen⁹⁷ und der angegebene Normbereich lediglich der Übernahme von Normwerten nach Angabe der Hersteller der Testreagentien entspricht.

Auch bei der Erhöhung der D-Dimere kann als Ursache körperlicher und seelischer Stress in Betracht kommen.³⁸ Andere Ursachen, wie Tumoren, Operationen etc.⁹⁸⁻¹⁰⁰ sind wiederum aufgrund des besonders überwachten

Spenderkollektivs eher unwahrscheinlich. Auch kommen präanalytische Fehler aufgrund des hoch standardisierten Entnahmeverfahrens nicht in Betracht (siehe Probengewinnung). Letztlich bleibt die D-Dimer-Erhöhung unklar.

Die Gründe für die signifikant höhere Faktor II Aktivität vor der Apherese in der Gruppe der Spender mit PT G20210A-Mutation, erklärt sich durch die Genmutation selbst,^{16,24,26,27,29,83,92-94} ebenso die signifikant erniedrigte APC-Resistenz-Ratio vor und nach der Apherese in den Gruppen, in denen Spender mit heterozygoter FV:Q506-Mutation vorhanden sind.^{1,11,18-22,85,86,90} Die von uns gemessenen Werte entsprechen den Literaturergebnissen (siehe Material und Methoden, APC- Resistenz (Faktor Q:506-Mutation), Faktor II Aktivität).

4.4.2 Vergleich der Änderungen der Laborparameter innerhalb der einzelnen Gruppen vor und nach der Apherese

Die Ergebnisse der Laborwertvergleiche vor und nach Apherese zeigen in allen Gruppen einen deutlichen Einfluss der Apherese auf das Gerinnungssystem der Spender. Dies betrifft sämtliche gemessenen Parameter bis auf die Faktor II Aktivität und die APC-Resistenz.

Die in dieser Arbeit erhobenen Änderungen von Laborwerten decken sich weitgehend mit den Ergebnissen sowohl neuerer Studien als auch älterer Arbeiten, die Gerinnungsparameter vor und nach Apherese untersuchten:

Schon 1983 beschrieben Nilsen et al.¹⁰¹ den Einfluss der Apherese auf die Gerinnung. Besondere Beachtung fand dort die Beobachtung des Abfalls der Immunglobuline und des Antithrombin unter der Apherese. Bei einigen Spendern persistierte die Antithrombinsenkung sogar über mehrere Wochen, weshalb Kontrollen der Gerinnungsparameter auch einige Wochen nach Apherese empfohlen wurden. Auch Wood et al.¹⁰² beschreiben 1986 den Abfall von Gerinnungsfaktoren und Immunglobulinen unter der Apherese bei 7 Spendern während 100 therapeutischer Plasma-Apheresen, ohne dass es zu klinisch signifikanten Änderungen der Hämostase kam. Auch nach einer Woche nach

Apherese fanden sich noch erniedrigte Antithrombinaktivitäten sowie Immunglobulin- und Fibrinogenlevel.

Nachdem ein Spender eine akute Lungenembolie unter der Apherese erlitt, untersuchten Zimmermann et al.¹⁰³ den Effekt der Apherese insbesondere auf die Antithrombinerniedrigung an 60 Thrombozytenspendern und konnten die Abnahme der Konzentration unter der Apherese bestätigen. Aufgrund dieser Ergebnisse entstand die Annahme, dass Spender, welche bereits vor der Apherese eine deutlich erniedrigte Antithrombin Aktivität aufweisen, ein erhöhtes Risiko für eine thrombembolische Komplikation haben.

Auch Kobayashi et al.¹⁰⁴ beschreiben 1993 eine durch die Thrombozytenapherese induzierte Hyperkoagulabilität. So fanden sich bei den Spendern insbesondere deutlich erhöhte Thrombin/Antithrombin-Komplexe als auch ein erniedrigtes Antithrombin und Plasminogen. Verantwortlich für diese Änderungen machten die Autoren die künstlichen Oberflächen der Zentrifuge. Thrombembolische Komplikationen unter der Apherese traten dort allerdings nicht auf.

Andere Studien über die Veränderungen im Gerinnungssystem zeigten ähnliche Änderungen der Blut- und Gerinnungsparameter unter der Apherese wie bei den hier untersuchten Spendern: So fanden sowohl Stohlawetz et al.¹⁰⁵ als auch Julius et al.¹⁰⁶ apheresebedingte Abnahmen der Konzentration von Antithrombin, D-Dimeren, Fibrinogen, Faktor V, Faktor VIII und Faktor XII sowie eine Zunahme der TAT-Konzentration.

Die Auswirkungen der Apherese auf Untergruppen von Spendern sind bisher wenig untersucht. 1992 beschrieben Matthes et al.¹⁰⁷ anhand der Untersuchung von verschiedenen Altersgruppen eine altersabhängige Normalisierung der Gerinnungsfaktoren und der Immunglobuline. So halte der Abfall der Immunglobuline als auch die hyperkoagulatorische Gerinnungslage bei Spendern unter 25 Jahren deutlich länger an als bei Spendern über 50 Jahren, was bei der Antikoagulation gerade der jüngeren Spender beachtet werden sollte.

Die Thrombozytenspende wird heute von den meisten Autoren als weitgehend sicheres Verfahren akzeptiert.^{106,108} Allerdings sind insbesondere die Langzeiteffekte noch immer wenig erforscht, so dass viele diesbezügliche Aussagen (Thrombogenität, Procancerogenität, etc.) noch immer rein spekulativ sind.¹⁰⁹ Jedoch existiert auch Literatur, in der über letztlich ungeklärte thrombembolische Ereignisse unter, bzw. nach der Apherese berichtet wird.^{103,104}

Die bei uns gefundenen Gerinnungsveränderungen innerhalb des Gesamtkollektivs decken sich somit gut mit publizierten Untersuchungen. Analysen von Subgruppen insbesondere von Spendern mit Risikofaktoren der hereditären Thrombophilie liegen nicht vor.

4.4.3 Vergleich der Änderung der Laborwerte vor und nach Apherese in den einzelnen Spendergruppen mit der Änderung der Laborwerte in der Kontrollgruppe

Spender mit bestimmten genetischen Risikofaktoren und die Kontrollgruppe unterscheiden sich im Verhalten der TAT-Komplexe, Fibrinogen nach Clauss sowie der Faktor V Aktivität vor und nach Apherese signifikant.

4.4.4 Thrombin/Antithrombin-Komplexe und Fibrinogen bei Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation

Bei Trägern der heterozygoten PT G20210A-Mutation ist eine signifikant stärkere Erhöhung des TAT-Spiegels (in der Risikoträgergruppe im Median auf ca. 8,5 µg/l im Vergleich zu 4,1 µg/l in der Kontrollgruppe) zu finden. In der Kontrollgruppe liegt der TAT-Wert nach der Apherese somit am oberen Referenzbereich (1,0-4,1µg/l), während er bei den Risikofaktorträgern doppelt so hoch und außerhalb des Referenzbereiches liegt.

Da der TAT-Spiegel üblicherweise sehr genau das Ausmaß thrombinspezifischer, intravasaler Gerinnungsprozesse, bzw. die Thrombinbildung widerspiegelt,^{38,100,110-112} kann hier von einer vermehrten, intravasalen Gerinnung in Form einer Thrombinämie ausgegangen werden. Diese stellt als

solche möglicherweise ein erhöhtes Risiko für insbesondere venöse Verschlusskrankheiten dar.^{98,99,113,114} So fanden Hoek et al. ¹¹⁵ in einer prospektiven Studie erhöhte TAT-Spiegel auf durchschnittlich 10 µg/l am ersten Tag nach Hüftoperation bei Patienten, die im weiteren Verlauf eine tiefe Beinvenenthrombose entwickelten, während diese bei Patienten mit niedrigeren TAT-Befunden signifikant seltener waren. Allerdings ist anzumerken, dass die hier gemessene Thrombinämie aufgrund der nicht zunehmenden D-Dimere offenbar nicht zu einer vermehrten Fibrinbildung führt. Dies könnte in der Gabe hoher Mengen an ACD-Lösung mit antikoagulatorischem Effekt begründet sein, bleibt jedoch spekulativ. Literatur über die mögliche Wirkung von ACD auf das Gerinnungssystem von Blutspendern unter Apherese ist spärlich.¹¹⁶⁻¹²⁰

Obgleich klinisch manifeste thrombembolische Komplikationen einer Apherese bei gesunden Spendern ein seltenes Ereignis darstellen, können diese aufgrund der höheren TAT-Komplexe bei den Trägern der PT G20210A- Mutation nicht sicher ausgeschlossen werden.

Besondere Relevanz haben diese Daten möglicherweise bei Mutationsträgern, welche sich nach GCSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor)-Gabe einer Knochenmark- bzw. Stammzellspende unterziehen müssen, da diese Therapieformen als solche schon ein deutliches Thromboserisiko beinhalten (s.u.).¹²¹⁻¹²³

Auch die Folgen einer gesteigerten intravasalen Thrombinbildung -Thrombin ist immerhin der potenteste Plättchenaktivator.³⁸ für die Qualität des Thrombozytenkonzentrates und damit die Auswirkung auf den Empfänger sind unklar.

Als weiterer deutlicher Unterschied zwischen der heterozygoten Gruppe und der Kontrollgruppe konnte eine signifikant schwächere Abnahme der Fibrinogenkonzentration in der Gruppe der heterozygoten Spender beobachtet werden. Erhöhte Fibrinogenkonzentrationen gelten als ein Risikofaktor für die Ausbildung arterieller Verschlusskrankheiten, wie z.B. Myokardinfarkt³⁹ als auch

venöser Verschlüsse.¹²⁴ Auch bei Apoplex, akuten venösen Thrombembolien, Diabetes Mellitus, sowie unter der Einnahme von Ovulationshemmern wurden erhöhte Fibrinogenkonzentrationen beschrieben.^{41,42}

Obwohl sich die Fibrinogenkonzentrationen vor der Apherese bei allen Spendern weitgehend im Referenzbereich befanden (Min 1,7 g/l, Max 3,4 g/l), und die Fibrinogenwerte unter der Apherese abnahmen, kann hier bei den Risikofaktorträgern ein erhöhtes Risiko für venöse Thrombosen, nicht ausgeschlossen werden: Von Depka et. al. zeigen an einem großen Kollektiv (n=2881) aus Patienten und gesunden Kontrollen, dass Fibrinogen einen unabhängigen Risikofaktor für venöse Thrombosen darstellt. Insbesondere konnte in dieser großen Studie gezeigt werden, dass es schon innerhalb des Referenzbereiches zu einer deutlichen Zunahme des Risikos, eine Thrombose zu entwickeln, kommt. Auch die Arbeit von Koster et al., (Gesamtkollektiv n=398) kommt zu ähnlichen Ergebnissen.¹²⁴

Beide Beobachtungen zusammen –die erhöhten TAT-Werte einerseits und der schwächere Abfall der Fibrinogenkonzentration andererseits- können auf eine prothrombotische Konstellation bei den Spendern mit heterozygoter PT G20210A-Mutation hinweisen. Allerdings liegen keine Verlaufskontrollen der Gerinnungsparameter vor.

4.4.5 Faktor V Aktivität bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506-Mutation

Bei heterozygoten Trägern der FV:Q506-Mutation konnte gezeigt werden, dass ein Teil der Spender im Vergleich zur Kontrollgruppe vor der Apherese deutlich im Bereich >120% lag. Theoretisch kann diese Erhöhung in der eingeschränkten Inaktivierung durch Protein C (APC inaktiviert Faktor Va) zu suchen sein. Allerdings fehlen klinisch-chemische Untersuchungen, die dies bestätigen. Andere Ursachen erhöhter Faktor V Aktivitäten können z.B. akute Thrombosen, entzündliche Prozesse sowie Urämie und Protein C-Mangel sein. Auch postoperativ können erhöhte Faktor V-Spiegel vorkommen.³⁸ Allerdings können diese Ursachen bei dem jeweils vor der Apherese untersuchten und befragten Spenderkollektivs so gut wie ausgeschlossen werden.

Bei den heterozygoten Trägern der FV:Q506-Mutation war ein deutlich schwächerer Abfall der Faktor V-Aktivität unter der Apherese zu beobachten. Da bekannt ist, dass Faktor V für APC eine Kofaktor-Funktion bezüglich dessen Faktor Faktor VIIIa-Inaktivierung besitzt, d.h. dass Faktor V zusammen mit Protein S zu einer maximal effektiven Inaktivierung von Faktor VIIIa durch APC führt und somit inhibitorisch auf die Gerinnung wirkt^{89,91} kann man hier nicht ohne weiteres von einer erhöhten prokoagulatorischen Gerinnungslage ausgehen, da diese durch eine gleichzeitig erhöhte antikoagulatorische Wirkung kompensiert werden könnte. Insbesondere da keine Verlaufskontrollen vorliegen, sind Interpretationen bezüglich der Bedeutung für das Gerinnungssystem der Spender rein spekulativ.

4.5 Konsequenzen für die Auswahl der Thrombozytenspender

Es konnte gezeigt werden, dass die Apherese deutliche Änderungen im Gerinnungssystem aller Spender verursacht.

Weiter konnte gezeigt werden, dass die Apherese zu signifikanten Änderungen im Gerinnungssystem genetisch auffälliger Thrombozytenspender führt, die sich bei Spendern ohne diese Risikofaktoren nicht finden, und dass sich in der Familienanamnese der genetisch auffälligen Spender signifikant mehr Hinweise für thrombembolische Episoden finden lassen.

Dies wirft die Frage auf, ob es sinnvoll ist, diese Risikofaktorträger von der Spende auszuschließen, da nicht gewährleistet werden kann, dass die festgestellten Veränderungen das Gerinnungssystem der betroffenen Spender derart beeinflussen, dass daraus eine Gefährdung des Spenders resultiert. Auch eine unerwünschte Modifikation des Produktes von Risikofaktorträgern und damit möglicherweise eine Gefährdung der Empfänger, kann nicht sicher ausgeschlossen werden.

4.5.1 Ausschluß aufgrund der Familienanamnese?

Für einen Ausschluß von der Spende spricht, daß hochsignifikante Unterschiede zwischen den Familienanamnesen der Kontrollgruppe und der Gruppen der Risikofaktorträger bestehen. Dass die Spender mit Risikofaktor unauffällige

Eigenanamnesen haben, erklärt sich vor allem durch die konsequente Anwendung der Richtlinien der Bundesärztekammer zur Auswahl von Blutspendern⁷⁸, die einen Ausschluss von der Spende bei einmal stattgehabter Thrombose bedeutet. Zieht man in Betracht, dass viele Autoren für die beschriebenen genetischen Risikofaktoren einen Summationseffekt mit exogenen Risikofaktoren beschreiben, welche schließlich ein thrombembolisches Ereignis auslösen können, sind die betroffenen Spender durchaus als gefährdet anzusehen, wenn sie zusätzlich für mehrere dieser Risikofaktoren (z.B. Rauchen, Schwangerschaft, Ovulationshemmereinnahme, etc.) positiv sind,²³ insbesondere, da thrombembolische Ereignisse nach Apherese beschrieben sind.^{103,104,125} Diese exogenen Risikofaktoren wurden in dieser Studie nicht analysiert, aufgrund der gefundenen Daten sollten aber diesbezüglich weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Insbesondere die Änderungen im Gerinnungssystem betroffener Spender mit zusätzlichen exogenen Risikofaktoren sollten untersucht werden.

Nach den in dieser Studie gewonnenen Daten kämen für einen Ausschluß von der Spende alle Spender in Frage, die heterozygot für die FV:Q506-Mutation oder/und die PT G20210A-Mutation sind, da sich in dieser Spendergruppe die signifikanten Abweichungen von den Laborergebnissen der Kontrollgruppe fanden. Anstatt die sehr teuren Genanalysen durchzuführen, können nach unseren Untersuchungen Spender ersatzweise auch durch eine positive Familienanamnese mit einem thrombembolischen Ereignis, welches sich im Alter <50 Jahre manifestierte identifiziert werden, da für diese Gruppe die Summe der falsch positiven und falsch negativen Resultate minimal ist (E: Familienanamnese bei Spendern mit heterozygoter FV:Q506- oder PT G20210A-Mutation). Insgesamt hatten 16% der Spender eine positive Familienanamnese. Bei einem aktiven Thrombozytenspenderkollektiv von ca. 160 Thrombozytenspendern (MHH Blutbank 1999) wären das immerhin 26 Spender (entspricht 16%).

Ökonomische Überlegungen sprechen zunächst gegen einen Ausschluß von der Spende, da geeignete Spender in der Regel nicht unbegrenzt zur Verfügung stehen, ein Ausschluss jedoch den Thrombozytenspenderpool verkleinert. Bei allen Spendern, die zur Thrombozytenspende zugelassen werden, müssen nicht

nur die üblichen Infektionsparameter überprüft werden, sondern werden zusätzlich Ansprüche hinsichtlich Blutgruppe, Thrombozytenertrag etc. gestellt, so dass diese Untersuchungen den möglichen Spenderpool ohnehin deutlich eingrenzen.⁷⁸

Bei Ausschluss aufgrund der Familienanamnese kann festgehalten werden, dass die Träger der genetischen Risikofaktoren bereits vor den Laboruntersuchungen anhand der Familienanamnese ermittelt werden können und somit die o.g. Massnahmen und Kosten überhaupt nicht anfallen. Der Mehraufwand beschränkt sich lediglich auf das Erheben der Familienanamnese und ist somit minimal und wenig kostenintensiv.

Eine so große Spenderanzahl auszuschließen, ist nur möglich, wenn ein ausreichend großer Spenderpool vorhanden ist, aus dem neue Thrombozytenspender rekrutiert werden können. Zu bedenken ist weiterhin, dass 2,9% der Thrombozytenspender falsch positiv waren sowie 15,2% falsch negativ. Einwände aus ökonomischer Sicht gegen einen Ausschluss kommen somit vor allem dann in Betracht, wenn eine Blutbank auf jeden Thrombozytenspender angewiesen ist und eine zusätzliche Rekrutierung nicht möglich erscheint.

Generell ist bei der Anamneseerhebung auch zu beachten, dass diese immer spenderabhängige Ungenauigkeiten beinhaltet. So bestehen z.B. von Spender zu Spender große Unterschiede in der Kenntnis der eigenen Familienanamnese. Zwar handelt es sich bei Thrombozytenspendern im allgemeinen um junge und gut orientierte Personen, dennoch können für Laien bestimmte Fragen sehr schwer zu beantworten sein, z.B. wenn es um die Unterscheidung von venösen und arteriellen Thrombosen geht. Diese Tatsache kann eine solche Anamnese unbrauchbar machen. Es ist daher sinnvoll, den Spendern genug Zeit zu geben bzw. sie entsprechend zu informieren, um schwierige Fragen ggf. bis zum nächsten Spendetermin zu klären und so die Genauigkeit der Anamnese zu verbessern.

4.5.2 Ausschluß aufgrund der gemessenen Laborveränderungen?

Betrachtet man die gemessenen Laborwerte, so sprechen insbesondere die bei den Trägern der heterozygoten PT G20210A-Mutation gemessenen Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe für einen Ausschluss von der Spende, da sich gerade in dieser Gruppe deutliche Hinweise auf eine mögliche prokoagulatorische Gerinnungslage finden lassen (erhöhter TAT-Komplex, verminderte Fibrinogenerniedrigung). Außerdem gibt es bisher keine Langzeituntersuchungen, welche Aussagen über den weiteren Verlauf erlaubten und zeigten, das die obigen Veränderungen langfristig irrelevant bleiben. Andere Langzeituntersuchungen an Thrombozytenspendern weisen aber auf eine längere Persistenz von Laborveränderungen nach Apherese hin.^{101,104,106-109,126,127} Auch wenn die Thrombozytenapherese als weitgehend sicheres Verfahren akzeptiert ist, gibt es Berichte über seltene thrombembolische Ereignisse unter der Apherese, wie z.B. Axillarvenenthrombosen welche letztlich ungeklärt bleiben.¹²⁵ Auch wenn diese Ereignisse selten sind, sprechen sie dafür, jedes noch so kleine Risiko auszuschliessen. Entsprechende Untersuchungen stünden auch in Übereinstimmung mit § 1.2 der Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten der Bundesärztekammer, der klar formuliert, „den Spender vor Schaden zu bewahren und die Anwendung von Blutprodukten für den Empfänger so gefahrlos und wirksam wie möglich zu gestalten“.⁷⁸

Da Stammzellapheresen mit den gleichen Geräten durchgeführt werden, welche auch für die Thrombozytapherese benutzt werden, müssen für allogene Stammzellspender mit genetischen Risikofaktoren ähnliche Auswirkungen auf deren Gerinnungssystem vermutet werden, wie bei den hier untersuchten Thrombozytenspendern. Dies ist bisher jedoch nicht untersucht worden.

Besondere Relevanz haben die Ergebnisse aber vermutlich dann, wenn es sich bei den Spendern nicht um klinisch gesunde, mehrfach durch Voruntersuchungen auf Eignung zur Thrombozytenspende untersuchte Personen handelt, sondern um onkologische Patienten, wie z.B. autologe Stammzellspender, die ohnehin ein erhöhtes Thromboserisiko aufweisen:

Änderungen im Gerinnungssystem von onkologischen Patienten sind seit langem bekannt und auf eine Vielzahl von Ursachen zurückzuführen. Häufige Ursachen von Thrombosen bei diesen Patienten sind z.B. Chemotherapie, Bestrahlung, Tumoreigenschaften, Endothelveränderungen oder auch eine autologe Stammzellspende.¹²³ Die Rate an Stammzellspendern unter onkologischen Patienten ist in letzter Zeit deutlich angestiegen, auf der anderen Seite steigt damit aber auch die Wahrscheinlichkeit, eine Komplikation zu entwickeln,¹²² wobei die Sterberate bei Malignompatienten, die zusätzlich ein thrombembolisches Ereignis hatten, erhöht ist. ¹²⁸

Studien zu autologen Stammzellspendern zeigen, das auch hier signifikante Änderungen im Hämostasesystem und in einigen Fällen sogar Thrombosen vorkommen.¹²³ Neben Auswirkungen bedingt durch die Gabe von GCSF können diese folglich auch durch die dabei erforderliche Apherese bzw. durch möglicherweise vorhandene genetische Risikofaktoren verursacht sein. Untersuchungen dazu liegen nicht vor.

Auch über die Auswirkungen von genetischen Risikofaktoren auf die Qualität des Produktes allogener Stammzellspenden sind keine Untersuchungen vorhanden, so dass über deren möglichen Anteil an den vielfach beschriebenen thrombembolischen Komplikationen bei den Empfängern,^{121,129-137} nur spekuliert werden kann.

4.5.3 Beurteilung der Ausschlusskriterien

Ob die gefundenen Daten einen Ausschluß von Spendern mit auffälliger Familienanamnese von Spende rechtfertigen, kann nicht abschließend beurteilt werden, da keine Langzeituntersuchungen über die Gefährdung von Risikofaktorträgern durch die Apherese vorliegen. Allerdings scheint die Erhebung der Familienanamnese, auch unter Berücksichtigung der nicht immer einfachen Datenerhebung, ein gutes und kostengünstiges Mittel zur Erkennung von genetischen Risikofaktoren zu sein. Solange keine weiteren Untersuchungen vorliegen, scheint es gerechtfertigt, zumindest Spender, die eine Kumulation von Risikofaktoren zeigen und eine deutliche familiäre Belastung aufweisen, von der

Spende auszuschließen. Denkbar wäre beispielsweise, langfristig ein Punktesystem, anhand dessen das individuelle Risiko eines Spenders bewertet werden könnte, zu etablieren.

Auch die deutlichen Laborveränderungen lassen den Ausschluss von Spendern und somit die Aufnahme der Familienanamnese für thrombembolische Episoden in den Anamnesebogen sinnvoll erscheinen. Zwar gilt auch hier, dass noch keine Langzeit- und Verlaufsuntersuchungen vorliegen, jedoch weisen die gemessenen Laborwertveränderungen bei den Risikofaktorträgern deutlich in Richtung prokoagulatorischer Veränderung der Gerinnungslage. Insbesondere sollten zukünftig autologe Stammzellspender mit erhöhtem Thromboserisiko gescreent werden. So könnte man in dieser als besonders gefährdet anzusehenden Gruppe (s.o.) Verlaufsuntersuchungen durchführen und die Antikoagulation insbesondere während und ggf. auch nach der Apherese entsprechend anpassen bzw. initiieren.

Die dargelegten Untersuchungsergebnisse rechtfertigen auch weitere Untersuchungen des Gerinnungssystems genetisch auffälliger Thrombozytenspender. Von Interesse sind hier besonders die Veränderung unter der Apherese sowie die Normalisierung oder die Persistenz der veränderten Gerinnungsparameter einige Tage und Wochen nach der Spende.

Auch über die Auswirkung der genetischen Variationen auf das Thrombozytenprodukt ist bisher wenig bekannt ¹³⁸. Diesbezüglich sollten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

5.Zusammenfassung

Bei 308 Blut- bzw. Thrombozytenspendern wurden die Prävalenzen der PT G20210A-, FV:Q506-Mutation und MTHFR 677TT-Variante festgestellt. Bei 206 dieser Spender wurde die Familienanamnese für thrombembolische Ereignisse erhoben. Bei 24 der Thrombozytenspender aus diesem Kollektiv, die für einen oder mehrere der genetischen Risikofaktoren positiv waren, wurde die Änderung von Gerinnungsparametern unter Apherese untersucht und mit einer alters- und geschlechtsadaptierten, genetisch unauffälligen Kontrollgruppe (n=24) verglichen.

Es konnte gezeigt werden, dass sich in der Familienanamnese der genetisch auffälligen Spender hoch signifikant mehr Hinweise auf thrombembolische Episoden finden lassen. Dies gilt insbesondere für Spender, die für die PT G20210A- oder die FV:Q506-Mutation heterozygot sind.

Weiter konnte dargelegt werden, dass die Apherese hoch signifikante Änderungen im Gerinnungssystem aller Spender verursacht, und dass diese Änderungen bei genetisch auffälligen Thrombozytenspendern signifikant ausgeprägter sind als in der genetisch unauffälligen Kontrollgruppe. Insbesondere bei heterozygoten Trägern der PT G20210A-Mutation weisen der stärkere Anstieg der Thrombin/Antithrombinkomplexe sowie die schwächere Abnahme der Fibrinogenkonzentration unter Apherese im Vergleich zur Kontrollgruppe auf eine mögliche prokoagulatorische Gerinnungslage hin, ohne dass die Ursachen dafür zurzeit bekannt sind. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass die Thrombozytenspende für diese Spender ein erhöhtes Risiko beinhaltet. Unter bestimmten Umständen sollten daher derartige Spender von einer Thrombozytenspende mittels Apherese per Anamnese ausgeschlossen werden.

Um für Spender –vor allem aber auch allogenen Stammzellspendern- mit genetischen Risikofaktoren eine mögliche Gefährdung durch die Apherese auszuschliessen, sollten weitere Analysen und Langzeituntersuchungen durchgeführt werden. Auch über die Auswirkung der genetischen Variationen auf das Produkt und dessen Empfänger ist bisher nichts bekannt, was ebenfalls zu klären ist.

6.Literaturverzeichnis

1. Dahlback B: Resistance to activated protein C caused by the factor VR506Q mutation is a common risk factor for venous thrombosis [see comments]. *Thromb Haemost* 78:483, 1997
2. Dahlback B, Zoller B, Hillarp A: Inherited resistance to activated protein C caused by presence of the FV:Q506 allele as a basis of venous thrombosis. *Haemostasis* 26 Suppl 4:301, 1996
3. Appleby RD, Olds RJ: The inherited basis of venous thrombosis. *Pathology* 29:341, 1997
4. Bertina RM: Factor V Leiden and other coagulation factor mutations affecting thrombotic risk [see comments]. *Clin Chem* 43:1678, 1997
5. Lammle B, Demarmels Biasiutti F, Wuillemin WA, Stucki B, Furlan M: [The significance of APC resistance (activated protein C) for clinical practice]. *Schweiz Rundsch Med Prax* 86:154, 1997
6. Nowak-Gottl U, Dubbers A, Kececioglu D, Koch HG, Kotthoff S, Runde J, Vielhaber H: Factor V Leiden, protein C, and lipoprotein (a) in catheter-related thrombosis in childhood: a prospective study. *J Pediatr* 131:608, 1997
7. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE: Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. *Jama* 277:1305, 1997
8. Baglin C, Brown K, Luddington R, Baglin T: Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with the factor V Leiden (FVR506Q) mutation: effect of warfarin and prediction by precipitating factors. East Anglian Thrombophilia Study Group. *Br J Haematol* 100:764, 1998
9. Ciardella AP, Yannuzzi LA, Freund KB, DiMichele D, Nejat M, De Rosa JT, Daly JR, Sisco L: Factor V Leiden, activated protein C resistance, and retinal vein occlusion [see comments]. *Retina* 18:308, 1998
10. de Moerloose P, Wutschert R, Heinzmann M, Perneger T, Reber G, Bounameaux H: Superficial vein thrombosis of lower limbs: influence of factor V Leiden, factor II G20210A and overweight. *Thromb Haemost* 80:239, 1998
11. Alhenc-Gelas M, Arnaud E, Nicaud V, Aubry ML, Fiessinger JN, Aiach M, Emmerich J: Venous thromboembolic disease and the prothrombin,

methylene tetrahydrofolate reductase and factor V genes. *Thromb Haemost* 81:506, 1999

12. Bergenfeldt M, Svensson PJ, Borgstrom A: Mesenteric vein thrombosis due to factor V Leiden gene mutation. *Br J Surg* 86:1059, 1999

13. Dahlback B: Activated protein C resistance and thrombosis: molecular mechanisms of hypercoagulable state due to FVR506Q mutation. *Semin Thromb Hemost* 25:273, 1999

14. De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, Paciaroni K, Chiusolo P, Casorelli I, Rossi E, Leone G: The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med* 341:801, 1999

15. Ehrenforth S, von Depka Prondsinski M, Aygoren-Pursun E, Nowak-Gottl U, Scharrer I, Ganser A: Study of the prothrombin gene 20201 GA variant in FV:Q506 carriers in relationship to the presence or absence of juvenile venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:276, 1999

16. Eikelboom JW, Ivey L, Ivey J, Baker RI: Familial thrombophilia and the prothrombin 20210A mutation: association with increased thrombin generation and unusual thrombosis [see comments]. *Blood Coagul Fibrinolysis* 10:1, 1999

17. Bloemenkamp KW, Rosendaal FR, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP: Higher risk of venous thrombosis during early use of oral contraceptives in women with inherited clotting defects. *Arch Intern Med* 160:49, 2000

18. Eskandari MK, Bontempo FA, Hassett AC, Faruki H, Makaroun MS: Arterial thromboembolic events in patients with the factor V Leiden mutation. *Am J Surg* 176:122, 1998

19. De Lucia D, Nina P, Papa ML, Belli A, Conte M, Renis V, Di Mauro C, Masi S, Franco A, Schisano G: Activated protein C resistance due to a factor V mutation associated with familial ischemic stroke. *J Neurosurg Sci* 41:373, 1997

20. Rosendaal FR, Siscovick DS, Schwartz SM, Beverly RK, Psaty BM, Longstreth WT, Jr., Raghunathan TE, Koepsell TD, Reitsma PH: Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women [see comments]. *Blood* 89:2817, 1997

21. Katz R, Gillis S, Bar-Ziv J, Gimmon Z: Mesenteric thrombosis and factor V Leiden. *Eur J Surg* 165:167, 1999

22. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, d'Addeda M, Cappucci G, Vecchione G, Sciannone N, Pavone G, Di Minno G: Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost* 77:822, 1997
23. Huisman MV, Rosendaal F: Thrombophilia. *Curr Opin Hematol* 6:291, 1999
24. Brown K, Luddington R, Williamson D, Baker P, Baglin T: Risk of venous thromboembolism associated with a G to A transition at position 20210 in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene. *Br J Haematol* 98:907, 1997
25. Junker R, Koch HG, Auberger K, Munchow N, Ehrenforth S, Nowak-Gottl U: Prothrombin G20210A gene mutation and further prothrombotic risk factors in childhood thrombophilia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:2568, 1999
26. Arruda VR, Annichino-Bizzacchi JM, Goncalves MS, Costa FF: Prevalence of the prothrombin gene variant (nt20210A) in venous thrombosis and arterial disease. *Thromb Haemost* 78:1430, 1997
27. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Casorelli I, Rossi E, Molinari M, Servidei S, Tonali PA, Leone G: Prothrombin G20210A mutant genotype is a risk factor for cerebrovascular ischemic disease in young patients. *Blood* 91:3562, 1998
28. Ridker PM, Hennekens CH, Miletich JP: G20210A mutation in prothrombin gene and risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in a large cohort of US men. *Circulation* 99:999, 1999
29. Makris M, Preston FE, Beauchamp NJ, Cooper PC, Daly ME, Hampton KK, Bayliss P, Peake IR, Miller GJ: Co-inheritance of the 20210A allele of the prothrombin gene increases the risk of thrombosis in subjects with familial thrombophilia. *Thromb Haemost* 78:1426, 1997
30. Arruda VR, von Zuben PM, Chiapparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF: The mutation Ala677-->Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 77:818, 1997
31. Margaglione M, D'Andrea G, d'Addeda M, Giuliani N, Cappucci G, Iannaccone L, Vecchione G, Grandone E, Brancaccio V, Di Minno G: The methylenetetrahydrofolate reductase TT677 genotype is associated with venous

thrombosis independently of the coexistence of the FV Leiden and the prothrombin A20210 mutation. *Thromb Haemost* 79:907, 1998

32. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Cappucci G, Brancaccio V, Di Minno G: Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thromboembolism: roles of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations [see comments]. *Am J Obstet Gynecol* 179:1324, 1998

33. Loewenstein A, Goldstein M, Winder A, Lazar M, Eldor A: Retinal vein occlusion associated with methylenetetrahydrofolate reductase mutation [published erratum appears in *Ophthalmology* 2000 Feb;107(2):228]. *Ophthalmology* 106:1817, 1999

34. Cattaneo M, Tsai MY, Bucciarelli P, Taioli E, Zighetti ML, Bignell M, Mannucci PM: A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) increases the risk for deep-vein thrombosis in patients with mutant factor V (factor V:Q506). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:1662, 1997

35. Brown K, Luddington R, Baglin T: Effect of the MTHFRC677T variant on risk of venous thromboembolism: interaction with factor V Leiden and prothrombin (F2G20210A) mutations. *Br J Haematol* 103:42, 1998

36. Rintelen C, Mannhalter C, Lechner K, Eichinger S, Kyrle PA, Papagiannopoulos M, Schneider B, Pabinger I: No evidence for an increased risk of venous thrombosis in patients with factor V Leiden by the homozygous 677 C to T mutation in the methylenetetrahydrofolate-reductase gene. *Blood Coagul Fibrinolysis* 10:101, 1999

37. Franco RF, Morelli V, Lourenco D, Maffei FH, Tavella MH, Piccinato CE, Thomazini IA, Zago MA: A second mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk of venous thrombotic disease [published erratum appears in *Br J Haematol* 1999 Jul;106(1):264]. *Br J Haematol* 105:556, 1999

38. Barthels M, Poliwoda H: *Gerinnungsanalysen*, vol. 6. Auflage, Thieme, 1998

39. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, Sharrett AR, Chambless LE: Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: The Arteriosclerosis Risk in Community (ARIC) Study. *Circulation* 96:1102, 1997

40. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP: Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. *Thromb. Haemost.* 71:719, 1994
41. Heinrich J, Balleisen L, Schulte H, Assmann G, van de Loo J: Fibrinogen and Factor VII in the prediction of coronary risk: Results from the PROCAM study in healthy men. *Arterioscler Thromb* 14:54, 1994
42. Maresa G, Di Blasio A, Marchioli R, Di Minno G: Measuring plasma fibrinogen to predict stroke and myocardial infarktion: an update. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:1368, 1999
43. Hultin MB: Fibrinogen and Faktor VII as risk factors in vascular disease. *Progr. Hemost. Thrombos.* 10:215, 1991
44. Lechler E: Prothrombinkomplexkonzentrate (Faktor II-VII-IX-X-Komplex)
Eigenschaften und klinische Anwendung: *Hämostasiologie*2, 1982, p 116
45. Mammen EF: Congenital coagulation disorders. *Semin. Thromb. Hemost.* 9 (1983) 1, 1983
46. Roberts HR, Foster PA: Inherited disorders of prothrombin conversion (ed 2). Philadelphia, Lippincott, 1987
47. Barthels M, Poliwoda H: Angeborener Faktor V- Mangel. *Hemostasiologie* 7:24, 1987
48. Spero JA, Lewis JH, Hasiba E: Dissiminated intravascular coagulation. Findings in 346 patients. *Thromb. Haemost.* 43:28, 1980
49. Lutze G, Franke D: Hämostaseologische Untersuchungen bei konventioneller fibrinolytischer Therapie mit Streptokinase (Awelysin). *Hemostaseologie* 11:39, 1991
50. Poller L: Oral contraceptives, blood clotting and thrombosis. *Brit. med. Bull.* 34:151, 1978
51. Fuhrer G, Gallimore MJ, Heller W, Hoffmeister HE: Faktor XII. *Blut* 61:258, 1990
52. Lämmle B, Wuillemin WA, Huber J: Thrombembolism and bleeding tendency in congenital Factor XII definciency- a study on 74 subjects from 14 swiss families. *Thromb. Haemost.* 65:117, 1991

-
53. Rodeghiero F, Castaman G, Ruggeri M, Tosetto A: Thrombosis in subjects with homozygous and heterozygous factor XII deficiency. *Thromb. Haemost.* 67:590, 1992
 54. Gjonnaes H, Stormorken MD: Cold promoted activation of factor VII. *Thrombos. Diathes. haemorrh.* 28:155, 1972
 55. Hirsh J, Poivella F, Pini M: Congenital antithrombin III deficiency. *Amer. J. Med.* 87:34S, 1989
 56. Lane DA, Caso R: Antithrombin: structure, genomic organisation, function and inherited deficiency. *Baillieres clin. Hematol.* 2 :961, 1989
 57. Dahlbäck B: Familial thrombophilia due to a previously unrecognized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc. nat. Acad. Sci.* 90:1004, 1993
 58. Dahlbäck B: The proteinC anticoagulant system: inherited defects as a basis for venous thrombosis. *Thromb. Res.* 77:1, 1995
 59. Vandenbroucke JP, Koster T, Briet E, Reitsma PH, Bertina MR, Rosendaal FR: Increased risk of venous thrombosis in oral- contraceptive users who are carriers of factor V Leiden Mutation. *Lancet* 344:1453, 1994
 60. Barthels M, Möller W, Oestereich C: Thrombin/Antithrombin III Komplex (TAT) Plasminogen Aktivator Inhibitor (PAI): Neue Erkenntnisse zur klinischen Relevanz. Marburg, Medizinische Verlagsgesellschaft, 1990
 61. Seitz R, Egbring R: Diagnostische Erfassung einer Aktivierung des Gerinnungssystems durch Messung der Antithrombin III- Komplexe.: Bruhn, H. : 6. Kongress der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung. Stuttgart, Schattauer, 1990
 62. Pelzer H: Determination of Human Thrombin- Antithrombin III Complex in Plasma with an Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *Thromb. Haemost.* 59, 1988
 63. Hoek H: Laboratory and Clinical Evaluation of an Assay of Thrombin- Antithrombin III Complexes. *Clin. Chem.* 34:2058, 1988
 64. Seitz R: The Disturbance of Hemostasis in Septic Shock: Role of Neutrophil Elastase and Thrombin, Effects of Antithrombin III and Plasma Substitution. *Eur. J. Haematol.* 43, 1989
 65. Gulba D: Thrombin- Antithrombin III Complex Level as Early Predictor of Reocclusion after successful Thrombolysis. *Lancet* 97, 1988

66. Gaffney PJ, Perry MJ: Unreliability of current serum fibrin degradation product (FDP) assays. *Thromb. Haemost.* 53, 1985
67. Bick RL: Disseminated intravascular coagulation and related syndroms. *Semin. Thromb. Haemost.* 14, 1988
68. Niewenhuizen W: Plasma assays for derivatives of fibrin and fibrinogen, based on monoclonal antibodies. Review. *Fibrinolysis* 2:1, 1988
69. Barthels M, Biewener A, Deinhardt J, von Depka M: Antithrombin am AMGA, MHH Hannover, 2001
70. d'Angelo A, Vigano-D'Angelo S, Esmon CT, Comp P: Acquired deficiencies of protein S. *J. Clin. Invest.* 81:1445, 1988
71. Malm J, Laurell M, Dahlbäck B: Changes in plasma levels of vitamin K- dependent proteins C and S and of C4b- binding proteins during pregnancy and oral conception. *Brit. Journal Haematol.* 68:437, 1988
72. Mammen EF: Protein C und S. *Hämostasiologie* 4 138, 1984
73. Dolan G, Ball J, Preston FE: Protein C and S. *Baillières clin. Haematol.* 2 :999, 1989
74. Seligson U, Berger A, Abend M, Rubin L, Attias D, Zivelin A, Rapaport SJ: Homocygous protein C deficiency manifested by massive venous thrombosis in the newborn. *New Engl. J. Med.* 310:559, 1984
75. Scrobohaci ML, Drouet L, Monem- Mansi A: Liver veno-occlusive disease after bone marrow transplantation changes in coagulation parameters and endothelial markers. *Thromb. Res.* 63:509, 1991
76. Jorens PG, Hermans CR, Haber J: Acquired protein C and S deficiency, inflammatory bowel disease and cerebral arterial thrombosis. *Blut* 61:307, 1990
77. Pabinger I, Kyrle PA, Speiser W: Diagnosis of protein C deficiency in patients on oral anticoagulant. *Thromb. Haemost.* 63:407, 1990
78. Bundesärztekammer: Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) vom Juli 2000; Neuformulierungen und Kommentare 2001. *Deutschen Ärzteblatt* 98:A3074 , 2001
79. von Depka M, Nowak- Göttl U, Eisert R, Dieterich C, Barthels M, Scharrer I, Ganser A, Ehrenforth S: Increased lipoprotein (a) levels as an independent risk faktor for venous thrombembolism. *Blood* 96, 2000

80. Matyskova M, Zavrelouva J, Pejchalova A, Meluzinova H, Janku L: [ABO/H blood groups and factor V Leiden]. *Cas Lek Cesk* 141:146, 2002
81. Robert A, Aillaud MF, Eschwege V, Randrianjohany A, Scarabin Y, Juhan-Vague I: ABO blood group and risk of venous thrombosis in heterozygous carriers of factor V Leiden. *Thromb Haemost* 83:630, 2000
82. Carter YM, Caps MT, Meissner MH: Deep venous thrombosis and ABO blood group are unrelated in trauma patients. *J Trauma* 52:112, 2002
83. Ferraresi P, Marchetti G, Legnani C, Cavallari E, Castoldi E, Mascoli F, Ardissino D, Palareti G, Bernardi F: The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:2418, 1997
84. Gurgey A: Clinical manifestations in thrombotic children with factor V Leiden mutation. *Pediatr Hematol Oncol* 16:233, 1999
85. Alvarez A, Barroso A, Robledo M, Arranz E, Outeirino J, Benitez J: [Prevalence of Factor V Leiden and the G20210A mutation of the prothrombin gene in a random group of patients with thrombotic episodes (see comments)]. *Sangre (Barc)* 44:7, 1999
86. Baglin TP, Brown K, Williamson D, Baker P, Luddington R: Relative risk of pulmonary embolism and deep vein thrombosis in association with the factor V Leiden mutation in a United Kingdom population [letter; comment]. *Thromb Haemost* 77:1219, 1997
87. Dahlback B: Physiological anticoagulation. Resistance to activated protein C and venous thromboembolism. *J Clin Invest* 94:923, 1994
88. Dahlback B: Inherited resistance to activated protein C, a major cause of venous thrombosis, is due to a mutation in the factor V gene. *Haemostasis* 24:139, 1994
89. Dahlback B, Hildebrand B: Inherited resistance to activated protein C is corrected by anticoagulant cofactor activity found to be a property of factor V. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:1396, 1994
90. Dahlback B: Resistance to activated protein C as risk factor for thrombosis: molecular mechanisms, laboratory investigation, and clinical management: *Semin Hematol*, vol. 34, 1997, p 217

91. Varadi K, Rosing J, Tans G, Pabinger I, Keil B, Schwarz HP: Factor V enhances the cofactor function of protein S in the APC-mediated inactivation of factor VIII: influence of the factor VR506Q mutation. *Thromb Haemost* 76:208, 1996
92. Gardemann A, Arsic T, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W: The factor II G20210A and factor V G1691A gene transitions and coronary heart disease. *Thromb Haemost* 81:208, 1999
93. Laposata M: The prothrombin G20210A mutation: a new high-prevalence congenital risk factor for thrombosis [editorial; comment]. *Gastroenterology* 116:213, 1999
94. Simons PJ, Vanhooren G, Longstreth WT, Jr., Colven RM: Cerebral venous thrombosis and the G20210A mutation of factor II [letter]. *Stroke* 31:543, 2000
95. Abbate R, Sardi I, Pepe G, Marcucci R, Brunelli T, Prisco D, Fatini C, Capanni M, Simonetti I, Gensini GF: The high prevalence of thermolabile 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in Italians is not associated to an increased risk for coronary artery disease (CAD). *Thromb Haemost* 79:727, 1998
96. Vargas M, Soto I, Pinto CR, Urgelles MF, Coto E: Mild hyperhomocysteinemia and MTHFR C677T do not increase the risk for venous thrombosis in a Spanish population [letter]. *Blood Coagul Fibrinolysis* 9:555, 1998
97. Koster T, Blann AD, Briet E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR: Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet* 345:152, 1995
98. Speiser W, Mallek R, Koppensteiner R, Stumpflen A, Kapiotis S, Minar E, Ehringer H, Lechner K: D-dimer and TAT measurement in patients with deep venous thrombosis: utility in diagnosis and judgement of anticoagulant treatment effectiveness. *Thromb Haemost* 64:196, 1990
99. Tengborn L, Palmblad S, Wojciechowski J, Peterson LE, Stigendal L: D-dimer and thrombin/antithrombin III complex--diagnostic tools in deep venous thrombosis? *Haemostasis* 24:344, 1994
100. Elias A, Bonfils S, Daoud-Elias M, Gauthier B, Sie P, Boccalon H, Boneu B: Influence of long term oral anticoagulants upon prothrombin fragment 1 + 2, thrombin-antithrombin III complex and D-Dimer levels in patients affected by proximal deep vein thrombosis. *Thromb Haemost* 69:302, 1993

101. Nilsson T, Rudolphi O, Cedergren B: Effects of intensive plasmapheresis on the haemostatic system. *Scand J Haematol* 30:201, 1983
102. Wood L, Jacobs P: The effect of serial therapeutic plasmapheresis on platelet count, coagulation factors, plasma immunoglobulin, and complement levels. *J Clin Apheresis* 3:124, 1986
103. Zimmermann B, Scheel H, Wegner H: Thrombophilia in blood-donation for plasma- and cytopheresis caused by antithrombin III depletion. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 115:314, 1988
104. Kobayashi I, Hamaoka S, Ozawa H, Ihno M, Tamura K, Tanaka Y, Sakamoto Y, Nakamura A, Ueno A: Hypercoagulable state induced by thrombocytapheresis. *J Clin Apheresis* 8:147, 1993
105. Stohlawetz P, Kapiotis S, Seidl D, Hergovich N, Zellner M, Eichler HG, Stiegler G, Leitner G, Hocker P, Jilma B: Safety issues of plateletpheresis: comparison of the effects of two cell separators on the activation of coagulation, fibrinolysis, and neutrophils and on the formation of neutrophil-platelet aggregates. *Transfusion* 39:420, 1999
106. Julius U, Siegert G, Gromeier S: Intraindividual comparison of the impact of two selective apheresis methods (DALI and HELP) on the coagulation system. *Int J Artif Organs* 23:199, 2000
107. Matthes G, Pawlow I, Ziemer S: Age-dependent regeneration of plasma proteins after donor plasmapheresis. *Infusionsther Transfusionsmed* 19:29, 1992
108. Humpe A, Riggert J, Munzel U, Kohler M: A prospective, randomized, sequential crossover trial of large-volume versus normal-volume leukapheresis procedures: effects on serum electrolytes, platelet counts, and other coagulation measures. *Transfusion* 40:368, 2000
109. Kretschmer V, Sohngen D, Goddecke W, Kadar JG, Pelzer H, Prinz H, Eckle R: Biocompatibility and safety of cytopheresis. *Infusionstherapie* 16 Suppl 2:10, 1989
110. Blanke H, Praetorius G, Leschke M, Seitz R, Egbring R, Strauer BE: [Significance of the thrombin-antithrombin III complex in the diagnosis of pulmonary embolism and deep venous thrombosis--comparison with fibrinopeptide A, platelet factor 4 and beta-thromboglobulin]. *Klin Wochenschr* 65:757, 1987

111. Borris LC, Christiansen HM, Lassen MR, Olsen AD, Schott P: The value of the enzymic TAT test in the diagnosis of postoperative deep vein thrombosis after hip surgery. The Venous Thrombosis Group. *Thromb Res* 54:505, 1989
112. Hansen M, Mayer A, Peetz D, Hafner G, Prellwitz W, Rommens PM: [Improved postoperative prevention of thrombosis in trauma surgery by dose adjusted low molecular weight heparin based on TAT and D-dimer values]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 115:1213, 1998
113. Sassa H, Sone T, Tsuboi H, Kondo J, Yabashi T: Diagnostic significance of thrombin-antithrombin III complex (TAT) and D-dimer in patients with deep venous thrombosis. *Jpn Circ J* 60:201, 1996
114. Sorensen JV, Borris LC, Lassen MR, Christiansen HM, Schott P, Olsen AD: Levels of thrombin-antithrombin-III complex and factor VIII activity in relation to post-operative deep vein thrombosis and influence of prophylaxis with a low-molecular-weight heparin. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1:389, 1990
115. Hoek JA, Nurmohamed MT, ten Cate JW: Thrombin-antithrombin III complexes in the prediction of deep vein thrombosis following total hip replacement. *Thromb. Haemost.* 62:1050, 1989
116. Graybeal FQ, Jr., Mooreside DE, Langdell RD: Clotting factor activity in cryoprecipitates and supernatant plasma prepared from blood collected into ACD, ACD-adenine, CPD, and CPD-adenine and from plasma collected by plasmapheresis. *Transfusion* 9:135, 1969
117. Harke H, Gennrich M: [Aprotinin-ACD-blood: I. Experimental studies on the effect of aprotinin on the plasmatic and thrombocytic coagulation (author's transl)]. *Anaesthesist* 29:266, 1980
118. Maloney JV, Jr.: The use of ACD blood for extracorporeal circulation. *Transfusion* 6:369, 1966
119. Mishler JM, Lund P, Borberg H: Plateletpheresis with the IBM model 2997. I. Effects of ACD, NIH formula B on selected donor indices. *Vox Sang* 38:36, 1980
120. Olson PR, Cox C, McCullough J: Laboratory and clinical effects of the infusion of ACD solution during plateletpheresis. *Vox Sang* 33:79, 1977

121. Bertz H, Laubenberger J, Steinfurth G, Finke J: Sinus venous thrombosis: an unusual cause for neurologic symptoms after bone marrow transplantation under immunosuppression. *Transplantation* 66:241, 1998
122. Bick RL: Coagulation abnormalities in malignancy: a review. *Semin Thromb Hemost* 18:353, 1992
123. Catani L, Gugliotta L, Mattioli Belmonte M, Vianelli N, Gherlinzoni F, Miggiano MC, Belardinelli AR, Rosti G, Calori E, Bandini G, et al.: Hypercoagulability in patients undergoing autologous or allogeneic BMT for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 12:253, 1993
124. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP: Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case-control study of plasma levels and DNA polymorphisms--the Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost* 71:719, 1994
125. Jones DA, Williams E, Riley SA, Makris M: Axillary vein thrombosis in a healthy donor following platelet apheresis. *Br J Haematol* 116:390, 2002
126. Grgicevic D: [Effect of long-term plasmapheresis on blood composition. II. Changes in the concentration of coagulation factors, inhibitors, thrombocytes and its effect on routine tests of coagulation]. *Bilt Hematol Transfuz* 9:89, 1981
127. Nilsson IM, Freiburghaus C: Apheresis. *Adv Exp Med Biol* 386:175, 1995
128. Levitan N, Dowlati A, Remick SC, Tahsildar HI, Sivinski LD, Beyth R, Rimm AA: Rates of initial and recurrent thromboembolic disease among patients with malignancy versus those without malignancy. Risk analysis using Medicare claims data. *Medicine (Baltimore)* 78:285, 1999
129. Collins P, Roderick A, O'Brien D, Tuddenham E, O'Driscoll A, Chopra R, Goldstone A, Newland A: Factor VIIa and other haemostatic variables following bone marrow transplantation. *Thromb Haemost* 72:28, 1994
130. Goldberg SL, Mangan KF, Klumpp TR, Macdonald JS, Thomas C, Mullaney MT, Au FC: Complications of peripheral blood stem cell harvesting: review of 554 PBSC leukaphereses. *J Hematother* 4:85, 1995
131. Gordon B, Haire W, Kessinger A, Duggan M, Armitage J: High frequency of antithrombin 3 and protein C deficiency following autologous bone marrow transplantation for lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 8:497, 1991

132. Gordon BG, Haire WD, Patton DF, Manno PJ, Reed EC: Thrombotic complications of BMT: association with protein C deficiency. *Bone Marrow Transplant* 11:61, 1993
133. Salat C, Holler E, Reinhardt B, Kolb HJ, Pihusch R, Neumeister P, Hiller E: [Hypercoagulability in patients with veno-occlusive disease after bone marrow transplantation]. *Med Klin* 89:245, 1994
134. Leblond V, Salehian BD, Borel C, Mapakou CP, Dombret H, Sutton L, Binet JL, Ankri A: Alterations in natural anticoagulant levels during allogeneic bone marrow transplantation: a prospective study in 27 patients. *Bone Marrow Transplant* 11:299, 1993
135. Natazuka T, Kajimoto K, Ogawa R, Imoto S, Koizumi T, Nishimura R, Nakagawa T: Coagulation abnormalities and thrombotic microangiopathy following bone marrow transplantation from HLA-matched unrelated donors in patients with hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 21:815, 1998
136. Takatsuka H, Takemoto Y, Okamoto T, Fujimori Y, Tamura S, Wada H, Okada M, Kanamaru A, Kakishita E: Thrombotic microangiopathy following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 24:303, 1999
137. Kanamori H, Maruta A, Sasaki S, Yamazaki E, Ueda S, Katoh K, Tamura T, Otsuka-Aoba M, Taguchi J, Harano H, Ogawa K, Mohri H, Okubo T, Matsuzaki M, Watanabe S, Koharazawa H, Fujita H, Kodama F: Diagnostic value of hemostatic parameters in bone marrow transplant-associated thrombotic microangiopathy. *Bone Marrow Transplant* 21:705, 1998
138. Smith JK: Quality of plasma for fractionation--does it matter? *Transfus Sci* 15:343, 1994

7. Anhang

7.1 Erhebungsbogen Eigen- und Familienanamnese:

Fragebogen zur Erhebung von thrombembolischen Episoden(Verstopfung eines Blutgefäßes durch ein Blutgerinnsel)

Besteht für Sie z.Zt. einer der beiden im folgenden aufgeführten Risikofaktoren?
(bitte ankreuzen)

Rauchen

Pilleneinnahme (Schwangerschaftsschutz)

Hatten Sie jemals eine Thrombose ?

Ja/Nein

Wenn Sie die Frage mit Ja beantwortet haben bitte weiter ausfüllen:

Wann (Monat/Jahr): . . . 19....

Wo : Unterschenkel/Oberschenkel/Becken/Arm

Gewicht zum Zeitpunkt des Ereignisses (Kg):.....

Ist dem Ereignis ein Risikofaktor (siehe unten) innerhalb

von 14 Tagen vor dem Ereignis vorausgegangen?

Ja/Nein

Wenn ja, bitte entsprechende/n Risikofaktor/en ankreuzen:

Bettlägrigkeit (), Operation (), Unfall (), Schwangerschaft ()

Geburt (), Hormon/Pilleneinnahme (), Rauchen () =>> Wieviel/Tag:.....

Hatten Sie jemals einen Schlaganfall?

Ja/Nein

Wenn Sie die Frage mit Ja beantwortet haben bitte weiter ausfüllen:

Wann (Monat/Jahr): . . . 19....

Gewicht zum Zeitpunkt des Ereignisses (Kg):.....

Ist dem Ereignis ein Risikofaktor (siehe unten) innerhalb

von 14 Tagen vor dem Ereignis vorausgegangen?

Ja/Nein

Wenn ja, bitte entsprechende/n Risikofaktor/en ankreuzen:

Bettlägrigkeit (), Operation (), Unfall (), Schwangerschaft ()

Geburt (), Hormon/Pilleneinnahme (), Rauchen () =>> Wieviel/Tag:.....

Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt?**Ja/Nein**

Wenn Sie die Frage mit Ja beantwortet haben bitte weiter ausfüllen:

Wann (Monat/Jahr): . . . 19....

Gewicht zum Zeitpunkt des Ereignisses (Kg):.....

Ist dem Ereignis ein Risikofaktor (siehe unten) innerhalb
von 14 Tagen vor dem Ereignis vorausgegangen?**Ja/Nein***Wenn ja, bitte entsprechende/n Risikofaktor/en ankreuzen:**Bettlägrigkeit (), Operation (), Unfall (), Schwangerschaft ()**Geburt (), Hormon/Pilleneinnahme (), Rauchen () =>> Wieviel/Tag:.....***Hatten Sie jemals eine Lungenembolie?****Ja/Nein**

Wenn Sie die Frage mit Ja beantwortet haben bitte weiter ausfüllen:

Wann (Monat/Jahr): . . . 19....

Gewicht zum Zeitpunkt des Ereignisses (Kg):.....

Ist dem Ereignis ein Risikofaktor (siehe unten) innerhalb
von 14 Tagen vor dem Ereignis vorausgegangen?**Ja/Nein***Wenn ja, bitte entsprechende/n Risikofaktor/en ankreuzen:**Bettlägrigkeit (), Operation (), Unfall (), Schwangerschaft ()**Geburt (), Hormon/Pilleneinnahme (), Rauchen () =>> Wieviel/Tag:.....***Leiden Sie an Krampfadern?****Ja/Nein****Gibt es in Ihrer Familie Personen die jemals eine/n Thrombose,****Herzinfarkt, Schlaganfall oder Lungenembolie hatten?****Ja/Nein**

Wer:

Was:

Im Alter von Jahren:

Wer:

Was:

Im Alter von Jahren:

Wer:

Was:

Im Alter von Jahren:

Wer:

Was:

Im Alter von Jahren:

Die Fragebögen wurden nicht von dem Spender, sondern von dem jeweiligen Untersucher ausgefüllt.

7.2 Muster der Einwilligungserklärung



MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER

Abteilung für Transfusionsmedizin

Prof. Dr. R. Blasczyk

1.Zentrum Laboratoriumsmedizin

MHH · Abt. f. Transfusionsmedizin · D-30623 Hannover

Abteilung für Transfusionsmedizin

Leiter: Prof. Dr. R. Blasczyk

Carl-Neuberg-Straße 1

D-30625 Hannover

Telefon: 0511 532 2084

0511 532 2092

Fax: 0511 532 2076

Name, Vorname:

Geburtsdatum:

Einwilligungserklärung:

Hiermit erkläre ich mich einverstanden, dass im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie an Thrombozytenspendern, zusätzlich zu dem, für die Routineuntersuchungen benötigten Blut, 2 weitere Citratblutröhrchen (à 5ml) für Untersuchungszwecke entnommen werden. Weiterhin erkläre ich mich bereit an einem Interview (Patientenerhebungsbogen) teilzunehmen. Mir ist bekannt, dass die erhobenen Daten zu wissenschaftlichen Zwecken anonymisiert in eine elektronische Datenbank zur statistischen Auswertung aufgenommen werden.

Datum, Unterschrift des Spenders

7.3 Laborwerte- und Epidemiologietabellen

Tabelle 33: Labor vor und nach der Apherese bei 48 Thrombozytenspendern

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	TPZ	PTT	FBG	FII	FV	FVIII	FXII
JAL	11.11.72	0	0	0	0	1	106	35				89,6	
JAL	11.11.72	0	0	0	0	0	113	33	1,9	101	92	115	88
ASC	06.02.73	0	0	0	2	0	93	39	2,1	75	83	76,4	
ASC	06.02.73	0	0	0	2	1	89	39				57,9	46
DBA	13.06.63	1	1	0	1	0	106	35	2,5	102	105	169	121
DBA	13.06.63	1	1	0	1	1	104	36	1,7	90	94	88,7	74
JDB	28.06.72	1	0	1	0	0	103	34	2,1	116	120	64	102
JDB	28.06.72	1	0	1	0	1	97	36	2	93	112	70,1	94
WBE	23.12.43	1	0	0	0	1	100	35				93,8	126
WBE	23.12.43	1	0	0	0	0	102	33	2,6	146	156	173	142
MBU	24.08.66	1	0	0	0	0	107	33	2,8	120	139	167	95
MBU	24.08.66	1	0	0	0	1	95	33	2,9	115		145	124
UDA	30.12.62	1	0	0	0	1	98	39	2,1	80	91	67	115
UDA	30.12.62	1	0	0	0	0	104	36	2,4	94	87	94,2	120
UDA	01.08.60	0	1	0	1	1	109	37	2,3	91	81	60	89
UDA	01.08.60	0	1	0	1	0	113	36	3,2	104	101	110	85
EDA	13.08.76	0	0	1	1	0	95	36	2,7	107	95	127	90
EDA	13.08.76	0	0	1	1	1	90	37	2,1	92	80	72,4	44
DEH	24.09.67	1	1	1	0	0	113	38	2,5	121	160	137	102
DEH	24.09.67	1	1	1	0	1	104	40	2,2	72		87,3	88
CEV	23.12.66	0	0	1	0	0	125	33	3,1	119	105	125	156
CEV	23.12.66	0	0	1	0	1	115	35	2,9	107	91	81,8	110
BFR	20.11.73	1	0	1	0	0	107	33	1,9	128	106	199	149
BFR	20.11.73	1	0	1	0	1	100	33	2,8	127	104	113	
NGÄ	03.05.75	0	0	0	0	0	109	33	2,6	108	94	103	147
NGÄ	03.05.75	0	0	0	0	1	107	33	1,9	96	82	70,6	133
DGE	24.06.55	1	0	0	0	0	105	33	2,3	94	86	140	82
DGE	24.06.55	1	0	0	0	1	93	43	2,1	89	79	84,6	75
STH	24.01.74	1	1	0	0	1	83	40	1,1	76	65	56,1	82
STH	24.01.74	1	1	0	0	0	97	38	1,7	86	98	97,5	97
CHO	22.11.74	1	1	1	0	0	96	34	2,4	156	118	150	132
CHO	22.11.74	1	1	1	0	1	91	35	2,6	180	110	75,5	103
FIR	04.10.70	1	1	0	0	1	86	33	1,6	101		123	100
FIR	04.10.70	1	1	0	0	0	109	33	2,6	131	139	180	207
TJA	29.11.74	0	0	1	1	1	83	38	2,3	85	49	118	124
TJA	29.11.74	0	0	1	1	0	89	36	2,5	86	50	152	120
IJE	21.02.72	0	1	0	0	0	109	34	3	93	96	94,2	107
IJE	21.02.72	0	1	0	0	1	109	36	2,6	93	84	63,5	79
RJU	26.11.68	1	0	0	0	0	80	40	2,1	89	82	71,9	135
RJU	26.11.68	1	0	0	0	1	74	41	1,7	86	80	48,9	
UKA	16.05.38	1	1	0	1	1	106	39	2,2	86	104	106	42

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	TPZ	PTT	FBG	FII	FV	FVIII	FXII
UKA	16.05.38	1	1	0	1	0	113	35				170	76
RKL	05.04.74	1	0	0	0	1	81	38	2,1	134	159	70,1	85
RKL	05.04.74	1	0	0	0	0	93	36				105	99
OKO	16.09.64	1	0	0	0	1	94	39	2,1	68	78	35,6	112
OKO	16.09.64	1	0	0	0	0	104	36	2,5	80	102	48,9	139
JÜK	23.06.43	1	1	0	2	1	102	41	2,4	136	130	56,1	83
JÜK	23.06.43	1	1	0	2	0	109	38				84,6	99
HKR	24.08.66	1	1	0	1	0	104	38	2,1	79	120	71,9	113
HKR	24.08.66	1	1	0	1	1	95	40	1,6	58	93	59,2	46
KPK	16.06.55	1	1	0	0	1	98	36	2,6	90	109	103	111
KPK	16.06.55	1	1	0	0	0	101	35	3,2	77	127	124	123
FWL	19.01.62	1	0	1	1	0	111	36	2,4	146	117	137	106
FWL	19.01.62	1	0	1	1	1	89	43	2	109	110	96,1	75
JLU	31.03.35	1	0	0	0	0	120	33	2,9	98	123		101
JLU	31.03.35	1	0	0	0	1	111	36	2,4	88	113	105	93
BÖH	04.06.61	0	0	0	0	0	114	33	3,1	92	128	119	144
BÖH	04.06.61	0	0	0	0	1	106	36	2,3	86	122	71,5	121
HOM	09.05.55	1	0	0	0	0	117	33	2,5	107	100	98,9	149
HOM	09.05.55	1	0	0	0	1	109	35	2,6	91	105	75,2	119
CPT	07.01.61	1	0	0	0	1	84	40	2,4	87	74	64,8	112
CPT	07.01.61	1	0	0	0	0	90	36	3,1	98	84	106	120
ARI	28.04.75	0	0	0	0	1	109	35	3	115		105	108
ARI	28.04.75	0	0	0	0	0	120	33	3,8	130	251	181	161
IRO	15.07.73	0	0	0	0	0	102	33	2,3	98	96	158	117
IRO	15.07.73	0	0	0	0	1	98	33	2,1	94	96	116	108
HGR	24.04.64	1	0	0	0	0	101	33				141	99
HGR	24.04.64	1	0	0	0	1	98	34	2,8	115	84	85	
DSC	25.03.66	0	0	0	0	1	93	35	2,5	100	60	150	93
DSC	25.03.66	0	0	0	0	0	97	33	3,4	122	58	214	149
SSC	28.10.60	0	0	0	2	1	89	36	1,1	90	95	206	98
SSC	28.10.60	0	0	0	2	0	95	36	2,8	93	96	123	124
HSE	30.05.67	1	1	0	1	0	100	33	2,2	101	91	180	101
HSE	30.05.67	1	1	0	1	1	91	38	1,7	85	86	125	77
ASK	15.10.67	1	1	1	1	1	86	36	1,9	104	84	112	102
ASK	15.10.67	1	1	1	1	0	97	33	2,3	119	104	166	127
UST	12.04.63	0	0	0	0	0	100	38	2,5	85	116	120	119
UST	12.04.63	0	0	0	0	1	88	43	2	71	93	52,3	98
BTS	01.11.72	1	0	0	0	1	86	41	2,3	103		78,7	93
BTS	01.11.72	1	0	0	0	0	88	38	2,8	107	190	121	113
JTH	31.03.60	1	0	1	1	0	116	33	2,9	171	107	97,9	94
JTH	31.03.60	1	0	1	1	1	109	36	2,2	137	73	59,6	88
EUL	24.07.54	1	0	0	1	0	120	35	2,6	114	119	128	94
EUL	24.07.54	1	0	0	1	1	106	38	2,1	119	116	76	56
AVE	12.08.61	1	0	0	2	1	101	36	2,4	134	110	78,7	94

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	TPZ	PTT	FBG	FII	FV	FVIII	FXII
AVE	12.08.61	1	0	0	2	0	119	34	2,8	162	162	104	152
MVO	06.02.71	1	0	0	0	1	100	40	2,3	92	77	55,3	95
MVO	06.02.71	1	0	0	0	0	121	40	2,6	95	100	95,2	107
EWO	03.01.73	0	0	0	2	0	112	38	2,3	99	66	119	155
EWO	03.01.73	0	0	0	2	1	102	41	1,9	93	68	94,2	118
RWO	21.04.63	0	0	0	0	1	94	38	1,4	90	87	44,2	107
RWO	21.04.63	0	0	0	0	0	109	33	2,1	91	106	67,5	145
HWO	21.01.76	1	0	0	0	1	99	40				86,4	63
HWO	21.01.76	1	0	0	0	0	116	40	2,5	80	136	121	91
GZI	26.06.68	1	0	0	0	0	102	34				137	75
GZI	26.06.68	1	0	0	0	1	102	36	2,9	126	116	94,2	54

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	ATIII	APC	PC	PS	TAT	D-D
JAL	11.11.72	0	0	0	0	1	64	2,3			4,5	101
JAL	11.11.72	0	0	0	0	0	80	2,5	118	71	3,6	113
ASC	06.02.73	0	0	0	2	0	78		90	70	1,1	113
ASC	06.02.73	0	0	0	2	1	63				1,0	101
DBA	13.06.63	1	1	0	1	0	95	1,7	139	98	2,7	245
DBA	13.06.63	1	1	0	1	1	74	1,7			4,5	101
JDB	28.06.72	1	0	1	0	0	95	2,4	91	102	0,9	613
JDB	28.06.72	1	0	1	0	1	92	2,2			17,7	338
WBE	23.12.43	1	0	0	0	1	67	2,1	100		8,2	325
WBE	23.12.43	1	0	0	0	0	88	2,2	116	101	1,3	423
MBU	24.08.66	1	0	0	0	0	96	3,0	105	100	1,3	101
MBU	24.08.66	1	0	0	0	1	66	2,3	96		2,2	449
UDA	30.12.62	1	0	0	0	1	61	2,2			28,7	484
UDA	30.12.62	1	0	0	0	0	69	2,1	86	85	2,1	940
UDA	01.08.60	0	1	0	1	1	63				8,9	139
UDA	01.08.60	0	1	0	1	0	77	1,7	138	63	1,7	147
EDA	13.08.76	0	0	1	1	0	85	2,1	96	81	1,0	420
EDA	13.08.76	0	0	1	1	1	69	2,5			5,2	166
DEH	24.09.67	1	1	1	0	0	96	1,5	101	72	1,2	262
DEH	24.09.67	1	1	1	0	1	63	1,5	96		7,4	229
CEV	23.12.66	0	0	1	0	0	67	2,2	137	70	1,6	500
CEV	23.12.66	0	0	1	0	1	62	2,1			18,8	331
BFR	20.11.73	1	0	1	0	0	97	2,3	141	96	1,3	572
BFR	20.11.73	1	0	1	0	1	85	2,3			5,4	480
NGÄ	03.05.75	0	0	0	0	0	77	2,2	137	95	0,7	678
NGÄ	03.05.75	0	0	0	0	1	68	2,2			9,5	209
DGE	24.06.55	1	0	0	0	0	96	2,5	101	82	1,1	101
DGE	24.06.55	1	0	0	0	1	90	2,4			1,1	
STH	24.01.74	1	1	0	0	1	59	1,5			2,3	254
STH	24.01.74	1	1	0	0	0	63	1,7	91	87	1,1	516

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	ATIII	APC	PC	PS	TAT	D-D
CHO	22.11.74	1	1	1	0	0	95	1,3	145	100	1,4	601
CHO	22.11.74	1	1	1	0	1	91	1,5			4,6	587
FIR	04.10.70	1	1	0	0	1	64	1,7	159		6,3	101
FIR	04.10.70	1	1	0	0	0	89	1,5	171	88	1,2	601
TJA	29.11.74	0	0	1	1	1	56	2,1			10,9	301
TJA	29.11.74	0	0	1	1	0	56	2,3	96	51	2,0	355
IJE	21.02.72	0	1	0	0	0	73	2,3	134	89	1,1	101
IJE	21.02.72	0	1	0	0	1	68	2,1			6,5	101
RJU	26.11.68	1	0	0	0	0	81	2,1	96	92	1,0	465
RJU	26.11.68	1	0	0	0	1	73	2,2			1,2	222
UKA	16.05.38	1	1	0	1	1	57	1,7			2,4	256
UKA	16.05.38	1	1	0	1	0	75	1,6	102	99	5,2	559
RKL	05.04.74	1	0	0	0	1	69	2,3			4,6	290
RKL	05.04.74	1	0	0	0	0	84	2,4	100	86	1,6	139
OKO	16.09.64	1	0	0	0	1	57	2,4			3,6	120
OKO	16.09.64	1	0	0	0	0	87	2,4	76	97	7,9	518
JÜK	23.06.43	1	1	0	2	1	73	1,6			1,0	101
JÜK	23.06.43	1	1	0	2	0	87	1,6	121	87	0,9	256
HKR	24.08.66	1	1	0	1	0	82	1,6	97	86	1,2	304
HKR	24.08.66	1	1	0	1	1	67	1,7			10,7	101
KPK	16.06.55	1	1	0	0	1	71	1,7			2,8	560
KPK	16.06.55	1	1	0	0	0	72	1,6	86	79	1,0	983
FWL	19.01.62	1	0	1	1	0	97	2,1	108	79	0,9	353
FWL	19.01.62	1	0	1	1	1	76	2,4			5,6	127
JLU	31.03.35	1	0	0	0	0	67	2,4	114	93	0,7	631
JLU	31.03.35	1	0	0	0	1	63	2,4			3,4	257
BÖH	04.06.61	0	0	0	0	0	75	2,3	127	96	1,0	1127
BÖH	04.06.61	0	0	0	0	1	68	2,1			2,7	802
HOM	09.05.55	1	0	0	0	0	78	2,1	96	93	0,6	1068
HOM	09.05.55	1	0	0	0	1	65	2,0			32,1	163
CPT	07.01.61	1	0	0	0	1	76	2,3			2,5	345
CPT	07.01.61	1	0	0	0	0	74	2,2	118	92	0,9	461
ARI	28.04.75	0	0	0	0	1	55	2,3	94		5,5	593
ARI	28.04.75	0	0	0	0	0	86	2,0	111	101	1,7	1083
IRO	15.07.73	0	0	0	0	0	73	2,2	111	79	2,6	519
IRO	15.07.73	0	0	0	0	1	66	2,1			8,7	416
HGR	24.04.64	1	0	0	0	0	100	2,4	114	87	1,0	107
HGR	24.04.64	1	0	0	0	1	83	2,4			2,9	101
DSC	25.03.66	0	0	0	0	1	60	2,3			10,4	115
DSC	25.03.66	0	0	0	0	0	80	2,0	107	70	1,2	359
SSC	28.10.60	0	0	0	2	1	66	2,2			4,1	286
SSC	28.10.60	0	0	0	2	0	71	2,2	100	99	0,7	615
HSE	30.05.67	1	1	0	1	0	91	1,7	95	89	1,1	102
HSE	30.05.67	1	1	0	1	1	83	1,7			6,2	101

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	ZEIT	ATIII	APC	PC	PS	TAT	D-D
ASK	15.10.67	1	1	1	1	1	70	1,6			11,3	339
ASK	15.10.67	1	1	1	1	0	88	1,7	134	89	1,6	787
UST	12.04.63	0	0	0	0	0	80	2,3	96	126	0,8	843
UST	12.04.63	0	0	0	0	1	64				6,4	117
BTS	01.11.72	1	0	0	0	1	70	2,2			2,8	355
BTS	01.11.72	1	0	0	0	0	74	2,0	101	64	1,5	387
JTH	31.03.60	1	0	1	1	0	98	2,4	117	94	0,8	219
JTH	31.03.60	1	0	1	1	1	73	2,2			8,6	242
EUL	24.07.54	1	0	0	1	0	97	2,2	161	84	1,3	640
EUL	24.07.54	1	0	0	1	1	81	2,4			7,0	217
AVE	12.08.61	1	0	0	2	1	71	2,4			1,5	217
AVE	12.08.61	1	0	0	2	0	92	2,1	121	113	0,9	720
MVO	06.02.71	1	0	0	0	1	70	2,2			33,2	259
MVO	06.02.71	1	0	0	0	0	71	2,2	101	93	0,7	670
EWO	03.01.73	0	0	0	2	0	75	2,2	125	80	1,1	874
EWO	03.01.73	0	0	0	2	1	59	2,2			4,1	307
RWO	21.04.63	0	0	0	0	1	64	2,1			7,4	403
RWO	21.04.63	0	0	0	0	0	80	2,2	130	89	1,0	893
HWO	21.01.76	1	0	0	0	1	61	2,3	104		6,4	101
HWO	21.01.76	1	0	0	0	0	90	2,2	104	82	1,4	220
GZI	26.06.68	1	0	0	0	0	78	2,4	108	82	2,1	197
GZI	26.06.68	1	0	0	0	1	73	2,4			8,3	149

Tabelle 34: Labor 308 Blut- und Thrombozytenspender/innen

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
AAL	01.10.54	2	0	0	1	40	94	2,9	92	85	65	78,0
ABA	15.09.59	2	0	0	0	35	95	2,5	102	99	98	88,0
ABA	17.01.72	1	0	0	2	36	96	2,1	93	104	109	103,0
ABI	11.01.73	1	0	0	1	40	79	1,8	94	100	87	79,0
ABI	08.03.67	2	0	0	1	40	94	2	104	101	90	107,0
ABR	18.06.75	2	0	0	0	34	95	3,1	108	87	108	65,0
ADI	28.10.66	1	0	0	0	39	79	1,9	115	104	74	83,0
AFA	26.01.59	1	0	0	1	36	88	2	100	113	104	95,0
AGE	06.02.60	1	0	0	0	36	96	1,8	95	91	98	91,0
AGE	25.06.54	1	0	0	0	37	114	2,7	89	107	96	89,0
AKR	01.08.70	2	0	0	0	38	95	2,9	113	104	85	84,0
ALI	07.04.72	2	0	0	1	34	84	2,3	120	105	120	89,0
AMK	14.04.86	2	0	0	0	30	99	2,5	112	101	101	65,0
AMU	20.08.47	1	0	0	0	32	106	2,6	101	95	114	97,0
ARE	01.12.37	2	0	0	0	34	110	2,9	120	94	124	79,0
ARI	28.04.75	2	0	0	0	32	107	3,8	120	86	111	101,4
ARO	11.03.73	2	0	0	0	36	93	2,6	96	91	109	87,0
ASA	30.03.50	2	0	0	0	38	86	2,5	101	86	66	76,0
ASC	28.01.65	2	0	0	0	36	93	2	111	98	101	97,0
ASK	15.10.67	1	1	1	1	33	97	2,3	119	88	120	88,5
ATS	14.12.75	2	0	0	1	35	90	2	120	94	120	74,0
AVE	12.08.61	1	0	0	2	34	119	2,8	119	92	120	113,3
AWA	21.09.67	1	0	0	0	32	93	1,8	83	89	88	86,0
AWE	17.06.66	2	0	0	0	33	90	2,6	107	118	106	83,0
BBO	30.09.72	2	0	0	0	36	93	2,2	99	111	65	72,0
BCA	15.06.66	1	0	0	1	38	93	2,7	108	120	93	84,0
BCL	27.06.68	1	0	0	1	32	96	1,8	110	108	98	101,0
BDB	28.06.72	1	0	1	0	36	106	2,1	116	95	90,7	101,6
BEN	08.02.60	2	0	0	1	32	101	2,7	119	91	106	107,0
BFL	12.08.64	2	0	0	2	34	93	3,1	95	101	89	77,0
BFR	20.11.73	1	0	1	0	33	107	1,9	128	97	120	95,8
BHB	17.09.74	1	0	0	0	32	99	2,5	102	101	98	100,0
BHE	14.09.72	2	0	0	0	33	120	2,9	126	116	120	74,0
BMÖ	19.07.64	1	0	0	1	40	89	2	108	65	74	89,0
BÖH	04.06.61	2	0	0	0	33	114	3,1	92	80	120	95,8
BRÖ	01.06.60	2	0	0	1	39	83	3,5	86	95	76	90,0
BSC	21.12.59	1	0	0	1	32	120	2,6	110	119	105	96,0
BST	01.11.72	1	0	0	0	38	88	2,8	107	80	101	65,0
CBE	16.06.70	1	0	0	1	36	78	3,3	110	110	99	99,0
CCR	09.12.69	1	0	1	2	40	95	1,9	120	99	83	81,0
CDE	17.11.69	2	0	0	2	35	98	2,4	100	81	108	74,0
CDO	05.08.64	2	0	0	1	32	110	2,8	96	118	95	94,0
CEB	26.02.67	2	0	0	1	32	111	2,9	120	128	99	99,0
CEV	23.12.66	2	0	1	0	33	120	3,1	119	80	120	69,9
CFI	05.08.65	2	0	0	0	32	114	2,3	104	99	99	75,0
CFI	05.07.58	1	0	0	1	38	92	2,2	102	91	78	86,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
CFR	04.02.61	2	0	0	1	36	89	2,7	96	112	87	66,0
CHO	22.11.74	1	1	1	0	34	96	2,4	20	95	119	100,3
COT	19.04.67	1	1	0	0	39	105	2	119	99	120	99,0
CPT	07.01.61	1	0	0	0	36	90	3,1	98	80	118	92,4
CRI	16.03.68	1	0	0	1	32	98	2,7	128	109	120	97,0
CSC	13.10.69	1	0	0	0	35	84	1,9	96	108	80	65,0
CSO	22.06.76	2	0	0	0	33	99	2,8	111	98	102	97,0
CST	23.09.56	2	0	0	0	36	90	2	96	88	104	66,0
CTR	15.04.75	2	0	0	2	40	99	2,4	82	86	78	76,0
DBA	13.06.63	1	1	0	1	33	113	2,5	102	95	120	98,4
DBI	08.10.64	1	1	0	1	39	91	2,3	110	105	102	98,0
DEH	24.09.67	1	1	1	0	40	111	2,5	120	96	101	72,1
DEN	01.08.75	1	0	0	2	33	88	1,8	89	112	78	99,0
DER	23.01.59	1	0	0	0	33	104	1,9	96	107	120	96,0
DGE	24.06.55	1	0	0	0	35	100	2,3	94	96	101	81,6
DHO	26.04.47	1	0	0	1	32	120	3,2	109	93	102	96,0
DIE	01.08.70	2	0	0	1	33	85	2,4	120	80	110	78,0
DKO	01.10.69	2	0	0	1	38	92	2,7	97	90	78	66,0
DKÖ	09.09.62	2	0	0	0	32	114	2,3	102	103	99	73,0
DLI	31.10.64	1	0	0	0	34	100	1,8	90	110	112	78,0
DME	13.08.72	1	0	0	2	33	92	2	117	116	104	76,0
DSC	25.03.66	2	0	0	0	32	97	3,4	120	80	107	69,8
DST	26.06.68	1	0	0	2	35	93	4,1	107	102	88	80,0
DTR	21.07.40	1	0	0	0	35	114	3,6	112	81	117	82,0
DWA	25.09.50	2	0	0	1	38	93	2	102	90	106	82,0
DWI	10.06.45	1	0	0	0	37	94	2,3	81	104	91	97,0
EBÖ	01.01.38	1	0	0	0	30	71	2,9	102	104	93	85,0
EDA	13.08.76	2	0	1	1	39	109	2,7	107	85	95,5	81,0
EFI	24.11.37	1	0	0	0	34	99	2,5	105	92	86	83,0
EGI	03.05.36	1	0	0	0	32	109	2,7	120	92	120	99,0
EGO	20.07.26	1	0	0	1	32	96	2,1	90	89	103	68,0
EHA	08.06.43	1	0	0	0	35	120	2,3	100	101	120	104,0
EHG	30.12.44	2	0	0	0	32	118	3	105	100	100	96,0
EKA	14.08.47	2	0	1	0	32	95	2,1	135	93	117	97,0
EKL	04.03.63	1	0	0	1	32	89	1,8	100	86	65	75,0
EKU	23.02.43	1	0	0	0	36	88	2,3	118	87	91	90,0
EUL	24.07.54	1	0	0	1	40	128	2,6	114	97	119	84,3
EWO	03.01.73	2	0	0	2	31	104	2,3	99	80	119	79,9
FDU	09.07.66	1	0	1	1	36	92	1,8	115	90	102	85,0
FFI	07.03.61	1	1	0	0	39	96	1,8	100	93	113	89,0
FIR	04.10.70	1	1	0	0	32	109	2,6	119	89	171	87,6
FKÖ	18.10.71	1	0	0	0	38	101	2,5	110	101	101	100,0
FLA	19.01.62	1	0	1	1	36	111	2,4	119	97	108	78,8
FMI	07.07.59	1	0	0	0	36	86	1,9	83	100	109	89,0
FMW	20.06.74	1	0	0	1	39	99	1,9		105	97	76,0
FNA	28.12.66	1	0	0	1	39	93	2,7	109	94	120	85,0
FNI	30.07.63	1	0	0	0	35	95	2,5	112	88	101	94,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
FRZ	25.08.36	1	0	0	1	35	96	2	85	93	98	66,0
FSC	05.07.76	1	0	0	1	36	90	2	109	92	89	120,0
FSI	05.11.40	1	0	0	1	33	109	2,5	120	120	119	88,0
FWE	21.06.63	1	0	0	1	35	94	2,2	113	103	89	74,0
GAS	06.02.73	2	0	0	2	40	93	2,1	75	80	89,8	69,8
GBI	29.03.43	1	0	0	0	35	95	2,7	126	100	119	111,0
GBÖ	11.12.42	1	0	0	0	35	98	1,8	100	92	87	83,0
GGR	25.09.37	1	0	0	0	35	98	3	102	100	100	96,0
GHE	18.11.41	1	0	0	0	32	100	2,5	94	89	93	97,0
GKU	24.05.54	1	0	0	0	35	89	3,1	101	103	88	69,0
GLA	29.03.47	1	0	0	0	40	88	2,5	115	81	89	105,0
GMA	13.03.40	1	0	0	0	32	89	1,8	118	84	119	109,0
GME	12.03.44	2	0	0	1	30	107	3	111	120	96	70,0
GME	06.10.58	1	0	0	0	33	107	3,4	102	99	99	96,0
GSL	09.05.34	2	0	0	1	32	116	2,7	120	103	114	85,0
GVI	30.03.42	1	0	0	0	33	102	2,9	113	98	99	102,0
GWA	27.02.40	1	0	0	2	36	86	2,3	75	103	119	84,0
GWE	03.08.41	2	0	0	1	32	96	3,2	120	106	88	88,0
GZI	26.06.68	1	0	0	0	34	102	3,1	102	80	108	82,3
HBA	22.04.47	1	1	0	2	31	109	2,5	118	80	110	94,0
HBE	21.02.49	1	0	0	0	33	114	2,7	114	80	98	98,0
HBI	13.10.70	1	0	0	0	32	95	2,2	119	116	130	112,0
HBI	09.06.28	1	0	0	1	37	112	2,8	114	101	105	97,0
HDR	30.12.61	1	0	0	1	39	103	2,3	115	120	101	106,0
HES	03.07.72	1	0	0	2	36	84	1,8	85	80	74	69,0
HFR	08.11.48	2	0	0	1	35	105	4,3	119	105	123	98,0
HGR	22.03.65	2	0	0	1	40	104	3,2	111	104	72	65,0
HGR	17.04.53	2	0	0	1	35	111	2,3	115	110	105	101,0
HGR	24.04.64	1	0	0	0	32	101	2,3	99	100	114	87,3
HHE	22.01.42	1	0	0	1	32	116	2,7	103	97	140	90,0
HHH	13.02.54	1	0	0	0	32	110	3,3	98	97	101	99,0
HJR	04.06.42	1	0	0	2	33	88	2	116	107	104	96,0
HKE	25.08.67	1	0	0	0	36	101	3,4	143	97	84	94,0
HKI	15.10.42	1	0	0	0	33	102	1,9	99	96	119	101,0
HKÖ	26.02.40	2	0	0	2	32	101	2,5	117	91	104	84,0
HKÖ	17.02.39	1	0	0	2	33	108	2,9	110	91	104	99,0
HKR	24.08.66	2	1	0	1	38	104	2,1	79	82	97,1	86,4
HLA	04.04.65	1	0	0	1	37	88	1,8	80	97	80	89,0
HOM	09.05.55	1	0	0	0	34	107	2,5	107	81	95,5	92,7
HPH	04.07.41	1	0	0	0	37	112	2,8	114	111	119	91,0
HRE	21.11.69	1	0	0	0	35	98	98	99	101	99	102,0
HRE	08.10.40	1	1	0	1	38	111	2,7	110	98	97	112,0
HSA	14.01.52	2	0	0	2	39	114	2,3	113	97	119	66,0
HSE	30.05.67	1	1	0	1	38	100	2,2	101	91	94,7	89,0
HSI	07.08.59	1	0	0	0	33	100	2,9	98	101	99	99,0
HWE	24.10.71	2	0	0	2	32	88	2,2	99	91	90	66,0
HWE	25.03.41	1	0	0	0	38	103	2,9	100	97	119	70,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
HWI	05.11.71	1	0	0	0	33	100	2,3	118	109	118	85,0
HWO	21.01.76	1	0	0	0	42	99	2,5	80	90	104	81,8
IBE	13.05.64	2	0	0	1	34	112	2,5	119	97	119	66,0
IGE	14.06.70	2	0	0	0	38	111	3,2	119	90	225	67,5
IJE	01.04.70	2	0	0	0	38	98	2,6	109	103	96	75,0
IJE	21.02.72	2	1	0	0	34	109	3	93	81	134	89,0
IKO	21.09.74	2	0	0	0	35	100	2,3	119	81	91	103,0
IKR	06.10.72	2	0	0	0	33	90	2,5	119	87	114	91,0
ILI	13.06.60	2	0	0	1	36	112	3,3	127	101	100	98,0
ILW	26.07.37	2	0	0	2	34	109	2,2	119	96	118	69,0
IMU	24.07.41	2	0	0	1	33	99	2,3	99	102	95	72,0
IRA	10.02.32	2	0	0	1	38	95	3,2	78	81	113	92,0
IRO	15.07.73	2	0	0	0	32	102	2,3	98	81	111	79,2
ISE	17.05.54	1	0	0	0	32	88	4,1	118	110	119	84,0
IUO	15.02.50	1	0	0	2	32	92	1,8	110	89	98	115,0
IWE	26.03.64	2	0	0	0	33	98	2,9	101	102	98	99,0
IWI	16.10.75	2	1	0	1	36	107	2,7	113	114	103	70,0
IWI	13.03.73	2	0	0	0	33	100	2,9	98	114	102	98,0
JÄG	07.09.69	1	0	0	0	40	85	1,8	101	81	65	88,0
JAL	11.11.72	2	0	0	0	37	95	1,9	101	80	118	70,5
JBE	09.05.72	1	0	0	0	33	98	2,9	99	98	100	102,0
JDI	22.02.68	1	0	0	1	35	84	2,5	117	97	87	101,0
JDÜ	06.12.68	1	0	0	1	33	83	2,6	107	100	97	112,0
JEI	18.02.40	1	0	0	1	35	104	2,3	109	90	105	96,0
JKL	23.12.72	1	1	0	1	36	90	1,9	80	88	78	68,0
JKÖ	13.06.44	1	1	0	1	35	105	2,1	117	85	106	83,0
JKR	23.06.43	1	1	0	2	38	109	2,9	100	87	119	86,6
JKR	10.10.66	1	0	0	2	35	92	2	109	81	98	88,0
JLI	17.06.67	1	0	0	0	36	85	1,8	101	94	91	91,0
JLO	19.05.72	1	0	0	1	35	88	1,8	103	109	89	109,0
JLU	31.03.35	1	0	0	0	33	120	2,9	98	81	114	93,2
JLÜ	04.03.58	1	0	0	2	33	103	2,3	117	98	109	87,0
JME	17.07.49	1	0	0	0	32	96	2	118	96	101	91,0
JME	08.06.74	1	0	0	1	38	86	1,8	86	112	97	85,0
JMM	09.06.72	1	0	0	1	38	77	1,8	94	203	120	83,0
JNE	10.07.48	1	0	0	0	30	120	2,4	142	93	109	92,7
JRÖ	22.03.69	1	0	0	0	33	99	2,9	101	99	98	100,0
JSA	09.09.74	1	1	0	0	42	91	2,5	96	97	93	100,0
JSO	04.09.73	2	0	0	0	35	92	2,2	112	100	104	
JTH	31.03.60	1	0	1	1	33	116	2,9	171	98	117	93,7
JTR	16.02.61	1	0	0	1	35	101	1,8	95	85	79	62,0
JWA	23.06.58	1	0	0	0	32	95	2,2	109	91	101	101,0
KBE	08.11.60	1	0	0	0	33	99	2,9	101	101	99	100,0
KBO	15.08.56	1	0	0	1	36	88	2,7	119	95	90	99,0
KBR	07.09.68	1	0	0	1	32	90	2,2	126	90	92	103,0
KBU	15.10.52	1	0	0	1	36	90	2	102	88	99	104,0
KHJ	18.08.48	1	0	0	1	36	94	2	84	93	84	90,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATI	PC	PS
KKE	18.10.68	2	0	0	1	33	95	4,4	108	95	91	110,0
KKO	20.09.73	2	0	0	1	36	99	2,4	110	95	127	90,0
KPF	21.11.56	1	0	0	0	38	103	2,8	119	111	110	90,0
KPK	16.06.55	1	1	0	0	35	101	3,2	77	81	85,8	78,8
KSC	16.11.70	2	0	0	1	33	86	3,5	117	115	76	82,0
KSC	25.12.64	1	0	0	1	39	85	2,1	114	110	88	75,0
KSC	26.11.61	2	1	0	1	33	105	2,5	117	112	87	72,0
KSC	17.05.53	1	0	0	1	36	120	2,2	99	121	89	75,0
KST	21.04.73	2	0	0	0	32	111	2,5	109	77	88	69,0
KST	31.05.73	2	0	0	0	33	100	2,9	99	98	101	100,0
KST	28.12.68	2	0	0	1	39	89	2,5	108	92	80	76,0
KVO	25.05.71	2	0	0	0	35	86	1,9	95	114	99	75,0
LDI	05.04.67	2	0	0	1	42	112	2,2	92	117	86	74,0
LDW	15.07.65	1	0	0	0	33	100	3,7	105	205	105	97,0
LGU	25.11.33	1	0	0	0	33	125	3,8	84	85	100	109,0
MBE	19.03.53	1	0	0	0	38	92	1,8	102	84	92	82,0
MBU	24.08.66	1	0	0	0	33	107	2,8	120	96	105	100,3
MFE	10.11.76	2	0	0	0	33	101	2,9	98	99	105	110,0
MFR	13.06.73	1	0	0	1	38	78	1,8	98	72	70	96,0
MGÄ	03.05.75	2	0	0	0	32	109	2,6	108	81	137	94,7
MGL	08.06.62	1	0	0	1	39	120	2,3	103	93	75	86,0
MGR	16.07.74	1	0	0	0	33	110	2,9	101	98	98	100,0
MHI	14.03.73	1	0	0	1	40	83	1,9	100	94	96	75,0
MHO	11.02.66	1	0	0	1	38	87	2,2	106	115	99	107,0
MHO	17.05.56	1	0	0	0	35	93	2,3	117	87	95	101,0
MHÖ	23.08.69	1	0	0	0	34	99	2,9	110	88	96	101,0
MKA	08.11.68	1	0	0	1	33	101	2,9	115	112	104	100,0
MKO	18.03.74	2	1	0	0	36	101	2,3	119	81	91	54,0
MKO	13.12.71	1	0	0	0	34	84	2,3	93	111	91	90,0
MME	20.01.67	1	0	0	0	33	88	2,9	100	100	99	99,0
MMH	21.12.71	1	0	0	0	35	98	2,9	100	89	100	101,0
MPE	01.03.73	1	0	0	0	40	100	1,8	89	116	108	78,0
MRE	18.05.76	2	0	0	0	36	95	3,2	105	118	120	66,0
MRE	07.09.73	1	0	0	1	39	90	1,8	89	102	99	73,0
MSC	25.06.68	1	0	0	0	35	100	2,9	99	98	96	94,0
MVO	06.02.71	1	0	0	0	38	112	2,6	95	81	101	92,7
NGR	15.07.74	2	0	0	0	33	100	2,9	100	88	98	99,0
NMA	24.06.77	2	0	0	0	35	101	2,9	99	98	100	102,0
OBE	28.05.73	1	0	0	0	33	101	2,9	100	94	96	110,0
OBO	22.08.71	1	0	0	2	36	101	2,1	110	102	100	100,0
OBO	25.04.69	1	0	0	1	40	83	3,2	93	105	95	95,0
OEC	07.06.71	1	0	0	0	40	75	2,5	103	104	90	84,0
OFÖ	29.05.70	1	0	0	0	33	99	2,9	99	98	94	99,0
OKO	16.09.64	1	0	0	0	36	104	2,5	80	87	76,1	97,3
ORS	10.03.39	1	0	0	0	35	103	2,7	118	89	112	100,0
OTA	14.06.73	1	1	0	0	40	85	1,8	81	100	90	88,0
PDR	04.07.56	1	0	0	2	35	109	2,5	92	118	111	86,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
PEL	19.12.65	2	0	0	0	33	100	2,9	100	98	99	96,0
PFR	21.10.67	1	0	0	1	34	89	3,6	120	111	129	124,0
PHE	31.03.63	2	0	0	0	34	100	1,8	115	102	143	74,0
PNE	19.03.47	1	0	0	0	33	96	2,7	113	81	105	95,0
RBL	17.10.45	1	0	0	1	33	95	2,6	100	96	52	106,0
REH	10.01.45	2	0	0	0	40	110	2,1	101	116	89	82,0
RHA	10.01.69	1	1	0	0	38	90	2,2	104	81	76	85,0
RHI	01.07.62	1	0	0	0	36	103	2,1	111	96	93	100,0
RHO	21.09.58	1	0	0	1	34	105	2,7	111	118	81	86,0
RIM	06.09.41	1	0	0	0	33	101	3	103	84	78	99,0
RJU	26.11.68	1	0	0	0	40	80	2,1	89	81	96,3	92,2
RKL	05.04.74	1	0	0	0	36	93	2,9	99	99	100	85,9
RKU	28.08.63	1	0	0	0	33	99	2,9	100	102	99	98,0
RMA	21.07.55	1	0	0	0	33	98	2,3	117	102	102	113,0
RMÜ	12.01.55	1	0	0	1	35	114	1,9	114	122	1	77,0
RPA	07.07.41	2	0	0	0	37	86	2,4	100	106	103	91,0
RST	03.10.52	1	0	0	1	35	138	2,3	114	111	117	91,0
RTI	13.10.69	2	0	0	0	34	98	2,7	89	107	93	72,0
RWO	21.04.63	2	0	0	0	42	109	2,1	91	80	118	89,0
RZE	26.10.68	1	0	0	1	38	100	1,8	107	95	93	87,0
SBA	10.11.53	1	0	0	0	38	101	2,2	106	101	106	91,0
SBR	06.06.55	1	1	0	1	39	99	2,6	106	106	86	94,0
SDU	21.05.70	2	0	0	0	32	103	3,3	115	111	81	75,0
SEI	16.01.57	1	0	0	0	39	75	2,7	96	111	81	75,0
SFÜ	20.02.61	2	0	0	0	33	100	2,9	99	98	99	100,0
SGA	15.07.70	2	0	0	0	29	127	2,5	137	88	118	76,0
SHA	31.07.79	1	1	0	0	36	104	2,98	99	98	89	99,0
SHE	13.08.68	1	0	0	0	33	100	2,9	99	98	96	100,0
SHO	19.07.66	1	0	0	0	40	89	2,2	95	91	83	93,0
SHO	15.06.74	1	0	1	2	37	94	2,3	81	104	91	91,0
SJA	28.10.72	2	0	0	0	33	100	2,9	98	98	99	100,0
SKE	26.08.42	2	0	0	1	35	114	3,1	119	115	101	107,0
SKI	26.07.67	2	0	0	0	32	112	3	100	86	118	70,7
SLÖ	31.10.71	1	0	0	2	35	120	1,9	117	95	100	113,0
SME	25.11.67	1	0	0	1	36	109	1,8	96	107	116	91,0
SPÄ	26.03.57	2	0	0	0	36	101	3,1	120	93	99	94,0
SRÖ	17.07.49	2	0	0	1	33	126	2,7	114	98	112	92,0
SSC	28.10.60	2	0	0	2	36	95	2,8	93	81	100	99,2
SWI	09.02.73	2	0	0	0	34	100	2,9	100	99	94	96,0
SWO	21.02.67	1	0	0	1	36	75	3,4	99	109	95	76,0
SWU	07.03.74	2	0	0	1	38	83	1,8	100	91	83	87,0
TFR	05.11.70	1	0	0	1	37	101	1,8	107	96	80	97,0
THA	01.01.71	2	0	0	0	32	104	2,4	118	99	88	89,0
THI	21.02.75	1	1	0	0	38	97	1,8	86	65	90,7	86,6
TJA	29.11.74	2	0	1	1	38	89	2,5	86	56	95,5	66,0
TLA	21.12.37	2	0	0	1	38	100	1,8	119	99	118	94,0
TPE	17.02.56	1	0	0	1	38	120	2,8	119	119	116	84,0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	PTT	TPZ	FBG	FII	ATIII	PC	PS
TPI	24.02.68	1	0	0	0	33	100	2,9	99	106	105	100,0
TVO	29.03.68	1	0	0	2	38	93	2	102	97	86	88,0
TWE	07.06.75	1	0	0	0	32	86	1,8	108	105	101	90,0
UDA	30.12.62	1	0	0	0	36	93	2,4	94	69	85,8	85,2
UDA	01.08.60	2	1	0	1	33	119	3,2	104	81	118	66,0
UFR	29.11.58	1	0	0	1	33	105	1,9	120	100	104	107,0
UKA	16.05.38	1	1	0	1	35	113	2,9	119	81	102	99,2
UKA	21.11.65	2	0	0	0	35	105	2,3	115	104	96	89,0
UKO	30.12.54	1	0	0	0	36	102	2,9	99	98	98	88,0
UKO	17.07.69	1	0	0	0	29	105	2,4	120	127	118	113,0
UMÜ	11.05.61	1	0	0	0	33	120	2,9	120	100	96	100,0
USC	05.08.66	1	0	0	1	34	93	1,8	116	91	105	93,0
UST	12.04.63	2	0	0	0	38	100	2,5	85	80	96,3	120,0
UST	03.04.66	1	0	1	2	39	90	2,2	99	134	89	75,0
UTR	22.03.71	1	0	0	0	36	100	2,9	96	96	88	99,0
UWE	13.02.50	2	0	0	1	33	108	2	114	81	96	95,0
VGO	26.11.56	1	0	0	0	33	89	3,1	117	117	109	100,0
WAD	30.05.48	1	0	0	0	36	99	2,8	110	102	102	100,0
WBE	23.12.43	1	0	0	0	32	102	2,6	119	88	116	101,4
WBÖ	16.03.54	1	0	0	1	35	111	1,9	92	100	88	82,0
WHE	13.12.46	1	0	0	0	39	78	2	115	64	71	97,0
WHO	03.10.54	2	0	0	0	32	137	1,8	93	91	93	97,0
WKL	20.09.37	1	0	0	0	33	99	2,8	98	99	100	100,0
WKR	05.03.68	1	0	0	1	36	92	1,8	90	205	76	81,0
WMA	01.06.47	1	0	0	0	37	102	2,4	110	100	118	78,0
WME	15.06.74	1	0	0	1	39	80	2,9	120	87	104	94,0
WWA	14.08.53	1	0	0	2	32	103	2,1	120	95	101	85,0

Tabelle 35: Familienanamnese 206 Spender/innen

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	FA	FDAT	ART
ABA	15.09.59	0	0	0	1	0	0	0
ABA	17.01.72	1	0	0	2	1	81	1
ABI	11.01.73	1	0	0	1	1	65	1
ADI	28.10.66	1	0	0	0	0	0	0
AFA	26.01.59	1	0	0	1	0	0	0
AGE	25.06.54	1	0	0	0	0	0	0
AMK	14.04.86	0	0	0	0	0	0	0
ARE	08.11.59	0	0	0	0	0	0	0
ARI	28.04.75	0	0	0	0	1	80	1
ARO	11.03.73	0	0	0	0	0	0	0
ASC	28.01.65	0	0	0	0	0	0	0
ASK	15.10.67	1	1	1	1	1	50	3
AVE	12.08.61	1	0	0	2	0	0	0
AWA	21.09.67	1	0	0	0	0	0	0
AWE	17.06.66	0	0	0	0	0	0	0
BBO	30.09.72	0	0	0	0	0	0	0
BCA	15.06.66	1	0	0	1	0	0	0
BEN	08.02.60	0	0	0	1	0	0	0
BFL	12.08.64	0	0	0	2	1	58	1
BFR	20.11.73	1	0	1	0	1	49	1
BHB	17.09.74	1	0	0	0	0	0	0
BÖH	04.06.61	0	0	0	0	1	80	1
BTS	01.11.72	1	0	0	0	0	0	0
BUC	27.06.68	1	0	0	1	1	65	2
CBE	16.06.70	1	0	0	1	0	0	0
CCR	09.12.69	1	0	1	2	1	46	3
CDE	17.11.69	0	0	0	2	0	0	0
CEV	23.12.66	0	0	1	0	1	54	1
CFI	05.08.65	0	0	0	0	0	0	0
CFI	05.07.58	1	0	0	1	0	0	0
CFR	04.02.61	0	0	0	1	0	0	0
CHO	22.11.74	1	1	1	0	1	48	3
CPT	07.01.61	1	0	0	0	0	0	0
CSC	13.10.69	1	0	0	0	0	0	0
CSO	22.06.76	0	0	0	0	0	0	0
DBA	13.06.63	1	1	0	1	1	54	1
DBI	08.10.64	1	1	0	1	1	52	3
DEH	24.09.67	1	1	1	0	1	52	1
DEN	01.08.75	1	0	0	2	1	45	3
DGE	24.06.55	1	0	0	0	0	0	0
DKÖ	09.09.62	0	0	0	0	0	0	0
DME	13.08.72	1	0	0	2	1	71	1
DSC	25.03.66	0	0	0	0	0	0	0
DST	26.06.68	1	0	0	2	0	0	0
EBÖ	01.01.38	1	0	0	0	0	0	0
EDA	13.08.76	0	0	1	1	1	55	1

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	FA	FDAT	ART
EGO	20.07.26	1	0	0	1	0	0	0
EHA	30.12.44	0	0	0	0	0	0	0
EKA	14.08.47	0	0	1	0	1	52	3
EKU	23.02.43	1	0	0	0	0	0	0
EUL	24.07.54	1	0	0	1	1	75	1
EWO	03.01.73	0	0	0	2	0	0	0
FDU	09.07.66	1	0	1	1	1	74	1
FFI	07.03.61	1	1	0	0	1	51	3
FIR	04.10.70	1	1	0	0	1	53	1
FKÖ	18.10.71	1	0	0	0	0	0	0
FMI	07.07.59	1	0	0	0	0	0	0
FMW	20.06.74	1	0	0	1	0	0	0
FNI	30.07.63	1	0	0	0	0	0	0
FSI	05.11.40	1	0	0	1	0	0	0
FWL	19.01.62	1	0	1	1	1	55	3
GAS	06.02.73	0	0	0	2	0	0	0
GBI	29.03.43	1	0	0	0	0	0	0
GGR	25.09.37	1	0	0	2	1	55	1
GHE	18.11.41	1	0	0	0	0	0	0
GKU	24.05.54	1	0	0	0	0	0	0
GME	12.03.44	0	0	0	1	0	0	0
GME	06.10.58	1	0	0	0	0	0	0
GVI	30.03.42	1	0	0	0	0	0	0
GWE	03.08.41	0	0	0	1	0	0	0
GZI	26.06.68	1	0	0	0	0	0	0
HBA	22.04.47	1	1	0	2	0	0	0
HBI	09.06.28	1	0	0	1	0	0	0
HES	03.07.72	1	0	0	2	1	45	3
HFR	08.11.48	0	0	0	1	0	0	0
HGR	22.03.65	0	0	0	1	0	0	0
HGR	24.04.64	1	0	0	0	0	0	0
HHE	22.01.42	1	0	0	1	0	0	0
HHH	13.02.54	1	0	0	0	0	0	0
HJR	04.06.42	1	0	0	2	1	83	2
HKÖ	17.02.39	1	0	0	2	1	55	3
HKR	24.08.66	0	1	0	1	1	50	1
HOM	09.05.55	1	0	0	0	0	0	0
HPH	04.07.41	1	0	0	0	0	0	0
HRE	21.11.69	1	0	0	0	0	0	0
HRE	08.10.40	1	1	0	1	1	54	1
HSA	14.01.52	0	0	0	2	0	0	0
HSE	30.05.67	1	1	0	1	1	48	3
HSI	07.08.59	1	0	0	0	0	0	0
HWE	24.10.71	0	0	0	2	1	63	3
HWE	25.03.41	1	0	0	0	0	0	0
HWI	05.11.71	1	0	0	0	0	0	0
HWO	21.01.76	1	0	0	0	0	0	0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	FA	FDAT	ART
IBE	13.05.64	0	0	0	1	0	0	0
IGE	14.06.70	0	0	0	0	1	75	3
IJE	01.04.70	0	0	0	0	0	0	0
IJE	21.02.72	0	1	0	0	1	53	3
IKR	06.10.72	0	0	0	0	0	0	0
IMU	24.07.41	0	0	0	1	0	0	0
IRO	15.07.73	0	0	0	0	0	0	0
IWE	26.03.64	0	0	0	0	0	0	0
IWI	16.10.75	0	1	0	1	1	53	1
IWI	13.03.73	0	0	0	0	0	0	0
JAL	11.11.72	0	0	0	0	0	0	0
JBE	09.05.72	1	0	0	0	0	0	0
JDB	28.06.72	1	0	1	0	1	51	1
JDI	22.02.68	1	0	0	1	0	0	0
JEI	18.02.40	1	0	0	1	0	0	0
JKL	23.12.72	1	1	0	1	1	28	1
JKR	23.06.43	1	1	0	2	1	51	1
JKR	10.10.66	1	0	0	2	0	0	0
JLI	17.06.67	1	0	0	0	1	80	1
JLU	31.03.35	1	0	0	0	0	0	0
JLÜ	04.03.58	1	0	0	2	1	72	1
JME	08.06.74	1	0	0	1	0	0	0
JMM	09.06.72	1	0	0	1	0	0	0
JNE	10.07.48	1	0	0	0	0	0	0
JRÖ	22.03.69	1	0	0	0	0	0	0
JSO	04.09.73	0	0	0	0	0	0	0
JTH	31.03.60	1	0	1	1	1	81	1
JTR	16.02.61	1	0	0	1	0	0	0
JWA	23.06.58	1	0	0	0	0	0	0
KBE	08.11.60	1	0	0	0	0	0	0
KBO	15.08.56	1	0	0	1	0	0	0
KBR	07.09.68	1	0	0	1	0	0	0
KBU	15.10.52	1	0	0	1	0	0	0
KPF	21.11.56	1	0	0	0	0	0	0
KPK	16.06.55	1	1	0	0	1	53	3
KSC	16.11.70	0	0	0	1	0	0	0
KSC	26.11.61	0	1	0	1	1	51	3
KSC	17.05.53	1	0	0	1	0	0	0
KST	21.04.73	0	0	0	0	0	0	0
KST	31.05.73	0	0	0	0	0	0	0
KWA	25.09.50	0	0	0	1	0	0	0
LDI	05.04.67	0	0	0	1	0	0	0
LDW	15.07.65	1	0	0	0	0	0	0
MBU	24.08.66	1	0	0	0	0	0	0
MFE	10.11.76	0	0	0	0	0	0	0
MFR	13.06.73	1	0	0	1	1	70	1
MGR	16.07.74	1	0	0	0	0	0	0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	FA	FDAT	ART
MHO	11.02.66	1	0	0	1	0	0	0
MHO	17.05.56	1	0	0	0	0	0	0
MHÖ	23.08.69	1	0	0	0	1	69	1
MIU	15.02.50	1	0	0	2	1	54	1
MJÄ	07.09.69	1	0	0	0	0	0	0
MKO	18.03.74	0	1	0	0	0	0	0
MKO	13.12.71	1	0	0	0	1	81	1
MLK	26.02.40	0	0	0	2	0	0	0
MME	20.01.67	1	0	0	0	0	0	0
MMH	21.12.71	1	0	0	1	0	0	0
MRE	18.05.76	0	0	0	0	0	0	0
MRE	07.09.73	1	0	0	1	0	0	0
MSC	25.06.68	1	0	0	0	0	0	0
MVO	06.02.71	1	0	0	0	0	0	0
NGÄ	03.05.75	0	0	0	0	0	0	0
NGR	15.07.74	0	0	0	0	0	0	0
NMA	24.06.77	0	0	0	0	0	0	0
OBE	28.05.73	1	0	0	0	0	0	0
OBO	25.04.69	1	0	0	1	0	0	0
OEC	07.06.71	1	0	0	0	0	0	0
OFÖ	29.05.70	1	0	0	0	1	75	1
OKO	16.09.64	1	0	0	0	0	0	0
ORS	10.03.39	1	0	0	0	0	0	0
PEL	19.12.65	0	0	0	0	0	0	0
PNE	19.03.47	1	0	0	0	0	0	0
RBL	17.10.45	1	0	0	1	0	0	0
REH	10.01.45	0	0	0	0	0	0	0
RHA	10.01.69	1	1	0	0	1	53	1
RHI	01.07.62	1	0	0	0	0	0	0
RHO	21.09.58	1	0	0	1	0	0	0
RIM	06.09.41	1	0	0	0	0	0	0
RJU	26.11.68	1	0	0	0	0	0	0
RKL	05.04.74	1	0	0	0	0	0	0
RKU	28.08.63	1	0	0	0	0	0	0
RMÜ	12.01.55	1	0	0	1	0	0	0
RST	03.10.52	1	0	0	1	0	0	0
RWO	21.04.63	0	0	0	0	0	0	0
SBR	06.06.55	1	1	0	1	1	50	3
SEI	16.01.57	1	0	0	0	0	0	0
SFÜ	20.02.61	0	0	0	0	0	0	0
SHA	31.07.79	1	1	0	0	0	0	0
SHE	13.08.68	1	0	0	0	0	0	0
SJA	28.10.72	0	0	0	0	0	0	0
SKI	26.07.67	0	0	0	0	0	0	0
SLÖ	31.10.71	1	0	0	2	1	58	1
SPÄ	26.03.57	0	0	0	0	0	0	0
SSC	28.10.60	0	0	0	2	0	0	0

INI	DATUM	SEX	FVL	PT	MT	FA	FDAT	ART
SWI	09.02.73	0	0	0	0	0	0	0
SWU	07.03.74	0	0	0	1	0	0	0
TJA	29.11.74	0	0	1	1	1	54	3
TPI	24.02.68	1	0	0	0	0	0	0
TVO	29.03.68	1	0	0	2	1	86	1
UDA	30.12.62	1	0	0	0	0	0	0
UDA	01.08.60	0	1	0	1	1	54	3
UKA	16.05.38	1	1	0	1	1	35	2
UKA	21.11.65	0	0	0	0	0	0	0
UKO	30.12.54	1	0	0	0	0	0	0
UKO	17.07.69	1	0	0	0	0	0	0
UST	12.04.63	0	0	0	0	1	83	1
UTR	22.03.71	1	0	0	0	0	0	0
UWE	13.02.50	0	0	0	1	0	0	0
WBE	23.12.43	1	0	0	0	0	0	0
WBÖ	16.03.54	1	0	0	1	0	0	0
WHE	13.12.46	1	0	0	0	0	0	0
WKL	20.09.37	1	0	0	0	0	0	0
WMA	01.06.47	1	0	0	0	0	0	0

7.4 Legende zur Auswertungstabelle:

INI= Initialen

SEX= Geschlecht:

0= weiblich
1= männlich

FA=

Familienanamnese:

0= leer
1= auffällig

FVL= FV:Q506

Mutation:

0= negativ
1=heterozygot

PT= PT 20210A

Mutation:

0= negativ
1= heterozygot

MT= MTHFR C677T-

Mutation:

0= negativ
1= heterozygot
2= homozygot

**FDAT= jüngstes von
Ereignis betroffenes
Familienmitglied:**

Alter in Jahren

**ART= Art des
Ereignisses von
FDAT:**

0= kein
1=Thrombose arteriell
2= Lungenembolie
3=Thrombose venös

DATUM=

Geburtsdatum:

Tag/Monat/Jahr

PTT= aktivierte

**Thromboplastinzeit in
% der Norm**

**TPZ= Quick- Wert in
% der Norm**

**FBG= Fibrinogen
nach Clauss in g/l**

**FII= FaktorII Aktivität
in % der Norm**

**FV= Faktor V ktivität
in % der Norm**

**FVIII= Faktor VIII
Aktivität in % der
Norm**

**FXII= Faktor XII
Aktivität in % der
Norm**

**APC= aktivierte
Protein C Resistenz**

**ATIII= AntithrombinIII
Aktivität in % der
Norm**

**PC= Protein C
Aktivität in % der
Norm**

**PS= freie Protein S
Aktivität in % der
Norm**

**TAT= Thrombin-
Antithrombin-
Komplex in µg/l**

**D-D= Fibrin-
spaltprodukte in µg/l**

**ZEIT= Vor- nach
Apherese:**

0= vorher
1= nacher

8.Danksagung

Herrn Prof. Dr. A. Ganser danke ich für die Möglichkeit der Erstellung dieser Arbeit in der Abteilung für Hämatologie und Onkologie und die Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Besonders hervorzuheben ist die freundschaftliche Betreuung meiner Arbeit durch Herrn Dr. med. Mario von Depka- Prondzinski, der mir über die gesamte Zeit mit Hilfsbereitschaft, viel Geduld und gutem Rat zur Seite stand und dem an dieser Stelle mein tief empfundener Dank ausgesprochen sei. Herrn Dr. med Mario von Depka- Prondzinski danke ich auch für die Überlassung des Themas.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. R. Blasczyk sowie Herrn Dr. med. J. Kadar aus der Abteilung für Transfusionsmedizin der MHH, für die vielen Anregungen und Hinweise, sowie allen Mitarbeiter/innen der Blutbank der Medizinischen Hochschule Hannover.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau G. Aschermann für die freundliche und kompetente Einführung in die Laborarbeit, sowie allen Mitarbeiter/innen im Forschungslabor der Hämostaseologie der Medizinischen Hochschule Hannover.

Für die hilfreiche Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten möchte ich mich besonders bei Herrn Prof. Dr. H. Hecker und Herrn H. Geerlings aus dem Zentrum für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover bedanken.

Großer Dank gilt auch meiner Freundin und ehemaligen Kommilitonin Frau Sabine Schütze, für die vielen Ermunterungen und die Hilfestellungen beim Abfassen dieser Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei meinen Eltern, die mich während meines Studiums in jeder Hinsicht unterstützt und gefördert haben.

9. Lebenslauf

Am 26.04.1973 wurde ich, Niels Brüggemann, als erstes Kind der Kindergärtnerin Karin Brüggemann, geborene Dürre und des Internisten Hans- Gerd Brüggemann in Osnabrück geboren. Am 24.01.1976 kam meine Schwester Katrin zur Welt.

Seit 1980 besuchte ich die Freie Waldorfschule Evinghausen. Im August 1992 wechselte ich bis zum Abitur im Mai 1993 zur Freien Waldorfschule Hannover-Bothfeld.

Von September 1993 bis Dezember 1994 leistete ich meinen Zivildienst in den Städtischen Kliniken Osnabrück ab. Während dieser Zeit wurde ich v.a. im Pflegedienst internistischer, neurologischer und chirurgischer Stationen sowie auf der allgemeinen Wachstation beschäftigt.

In Sommersemester 1995 nahm ich das Studium der Humanmedizin an der Philipps Universität in Marburg an der Lahn auf. Während der Vorklinik arbeitete ich als Hilfsassistent im Anatomischen Institut und betreute den makro- und mikroskopischen Präparierkurs.

Nach dem Physikum im März 1997 wechselte ich bis zum Ende meines Studiums im Mai 2001 zur Medizinischen Hochschule in Hannover.

Während dieser Zeit famulierte ich in der Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie, der Inneren Medizin, der Augenheilkunde, der Urologie und der Allgemeinen- und Gefäßchirurgie in den Städtischen Kliniken Osnabrück (jeweils einen Monat).

Im März 1998 machte ich mein 1. Staatsexamen an der Medizinischen Hochschule Hannover.

Zwei meiner Famulaturen verbrachte ich im Ausland. Eine Famulatur in Innerer Medizin absolvierte ich im Sommer 1998 am Uniklinikum in Denpasar, Indonesien. Im Frühjahr 1999 verbrachte ich 6 Wochen als Student der University of Cape Town in der Plastischen- und Rekonstruktiven Chirurgie am Groote Schuur Hospital in Kapstadt, Südafrika.

Das 2. Staatsexamen bestand ich im März 2000 ebenfalls an der Medizinischen Hochschule Hannover.

Während meines Praktischen Jahres leistete ich mein Tertial in Innerer Medizin als Student der Universität zu Bern im Inselspital in Bern bei Prof. Mahler, Abteilung für Angiologie und Kardiologie ab. Mein Wahlfach Radiologie verbrachte ich in der Abteilung von Dr.Voßhage/Dr.Iffländer im Henriettenstift, Städtisches Klinikum Hannover. Den Chirurgie- Block des PJ's leistete ich bei Dr.Hierner in der Plastischen- Hand- und Wiederherstellungschirurgie im Oststadtkrankenhaus in Hannover ab. 8 Wochen verbrachte ich bei Dr. Jon B. Turk in der Plastischen und Rekonstruktiven Chirurgie des ENT Departments des Long Island Collage Hospitals in New York, USA.

Im Mai 2001 bestand ich das 3.Staatsexamen im Kreiskrankenhaus Großburgwedel.

Im Oktober 2001 nahm ich an der Medizinische Hochschule Hannover, das Studium der Zahnmedizin auf.

Den vorklinischen Lehrabschnitt des Zahnmedizinstudiums schloss ich im August 2002 ab.

(Niels Brüggemann)

10. Erklärung nach §2 Abs.2 Nrn.6 und 7

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Hochschule Hannover zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Bedeutung der hereditären Thrombophilie
für Klinik und
Hämostasesystem gesunder
Thrombozytenspender**

in der **Klinik für Hämatologie und Onkologie**

unter Betreuung von **Dr. Mario von Depka**

durch Zusammenarbeit mit der **Abteilung für Transfusionsmedizin**

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch diese oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt. Die Dissertation wurde bisher nicht veröffentlicht.

Hannover, den 20.04.2003

(Niels Brüggemann)