

## Gerinnungsinhibitoren – eine Kurzübersicht

Dr. med. Hartwig Luz

Pathologische Gerinnungswerte mit oder ohne Blutungsneigung werden häufig durch erworbene Inhibitoren des Gerinnungssystems verursacht. Dabei handelt es sich um Auto- oder Alloantikörper, die gegen Bestandteile des Gerinnungssystems gerichtet sind.

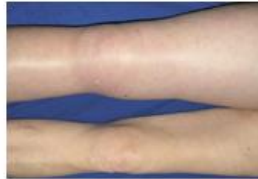


Abb.: aerztezeitung.de

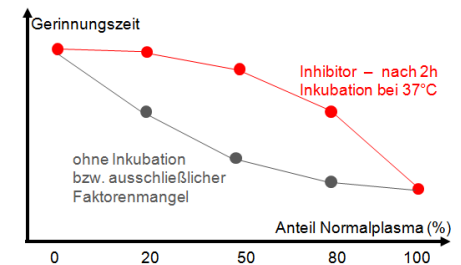


Abb.: novonordisk.de

Am häufigsten sind unspezifische, gegen negativ geladene Phospholipide gerichtete Auto-Antikörper, die zum Krankheitsbild des Antiphospholipidsyndroms (APS) mit Thromboembolien, Abortneigung und Thrombozytopenien führen können. Diese Antikörper beeinflussen verschiedene globale Gerinnungsteste wie z.B. Quick, aPTT, KCT (Kaolin Clotting time) oder DRVVT (Diluted Viper Russel Venom Time) in unterschiedlichem Ausmaß, meist ohne begleitende Blutungsneigung. Es handelt sich um heterogene Antikörperspezifitäten, die häufig nur passager, z.B. parainfektios bei Kindern, aber auch als eigenständiges bzw. begleitendes, z.B. beim Lupus Erythematodes, Autoimmunphänomen entstehen. Sie können im Labor entweder serologisch, z.B. als Anti-Cardiolipin- oder Anti- $\beta_2$ -Glykoprotein I-Antikörper, oder funktionell als sog. Lupusinhibitoren /-antikoagulans, nachgewiesen werden und gehen in die sog. Sapporo-Kriterien [1] zur Diagnose eines APS ein.

Weitaus seltener sind spezifische Antikörper gegen einzelne Gerinnungsfaktoren, auch Faktoreninhibitoren oder Hemmkörper genannt. Sie können prinzipiell gegen alle bekannten Gerinnungsfaktoren einschließlich des von-Willebrand-Faktors (VWF) und die Fibrinbildung gerichtet sein. Sie vermindern deren biologische Aktivität und/oder Plasmahalbwertszeit und führen typischerweise zu einer gesteigerten Blutungsneigung. Am häufigsten finden sich Antikörper gegen FVIII und FIX, wesentlich seltener gegen andere Gerinnungsfaktoren wie FXIII, FXII, FXI, FVII, FX, FV, FII sowie Thrombin. Je nach betroffenem Faktor resultieren unterschiedliche Kombinationen pathologischer und/oder normaler Gerinnungsglobalteste (Quick, aPTT, Fibrinogen).

Es kann sich dabei um spontan auftretende Autoimmunphänomene mit Entwicklung Faktoren-spezifischer Autoantikörper handeln, deren bekannteste und häufigste Form die Hemmkörperhämophile A mit einer Inzidenz von 1-4 / 1 Mio. Einwohner / Jahr darstellt. Diese Erkrankung zeigt 2 Altersgipfel zwischen 20- 30 bzw. 60 – 80 Jahren und tritt bevorzugt bei Frauen am Ende oder nach einer Schwangerschaft bzw. bei älteren Männern meist idiopathisch oder im Rahmen anderer Autoimmun-/ oder hämatologischer Systemerkrankungen auf. Es resultiert eine hohe, bis zu 40-prozentige Mortalität. Diagnostisch wegweisend ist eine deutliche Verlängerung der aPTT bei gleichzeitig normalem Quick- und Fibrinogenwert. Die diagnostische Bestätigung erfolgt durch die Kombination aus der Bestimmung der isoliert erniedrigten FVIII-Aktivität und dem gleichzeitigem Nachweis der Inhibitoraktivität im Plasmatauschversuch. Darin normalisieren sich Gerinnungszeiten verschiedener Patienten-/Normalplasma-Mischungen erst bei überwiegendem Normalplasmaanteil. Da es sich meist um sog. Progressivinhibitoren handelt, ist dieser Effekt häufig erst nach 2h Inkubation bei 37°C nachweisbar.



Davon abzugrenzen sind Faktoren-spezifische Allo-Antikörper, die typischerweise als Hemmkörper im Rahmen einer Substitutionstherapie mit Gerinnungsfaktoren bei angeborener Hämophilie entstehen. Auch hier dominieren zahlenmäßig FVIII-Hemmkörper, die v.a. initial bei regelmäßiger Substitution sowohl mit Plasma- als auch rekombinanten Präparaten in Abhängigkeit vom Gendefekt in bis zu 30% der Fälle auftreten. Labordiagnostisch kann hierbei die aPTT-Verlängerung alleine nicht zwischen dem angeborenen Faktormangel und einem evtl. zusätzlich vorhandenen Inhibitor differenzieren. Patienten mit Inhibitoren zeigen jedoch einen unzureichenden Anstieg der kalkulierten FVIII-Aktivität nach Substitution (sog. Recovery). Prinzipiell ähnliche Verhältnisse bestehen auch bei der wesentlich selteneren angeborenen Hämophilie B.

In beiden Fällen (Auto- bzw. Allo-Antikörper) kann eine Quantifizierung des Inhibitor-Titers in sogenannten

## LabTOPs

Wissenswertes aus der Laboratoriumsmedizin

22. Ausgabe – Juli 2017

### Gerinnungsinhibitoren – eine Kurzübersicht

Dr. med. Hartwig Luz

### Massenspektrometrie zum Nachweis von Giften und Drogen

Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Bethesda-Einheiten (BE) erfolgen, die das einzuleitende Therapiechema (z.B. hochdosierte Gabe von Gerinnungsfaktoren u./o. immunsuppressive Therapie u./o. Immunadsorption) mitbestimmt. Dabei ist eine BE als diejenige Menge an Inhibitor definiert, die in einem 1:1 Mischungsansatz aus Patienten- und Normalplasma die ursprüngliche Faktorenaktivität des Normalplasmas auf die Hälfte (50%) reduziert. In einem Ansatz aus vielen zunehmenden Verdünnungen des Patientenplasmas jeweils im 1:1 Mix mit Normalplasma wird diejenige Verdünnungsstufe gesucht, die zu dieser 50%igen Reduktion führt und die damit dem BE-Titer des Inhibitors entspricht.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass erworbene Gerinnungsinhibitoren zwar selten aber für den betroffenen Patienten von großer Gefährlichkeit sind. Insbesondere bei blutenden Patienten mit unplausiblen Befunden in den globalen Gerinnungstesten ist es wichtig, an diese Möglichkeit zu denken und in Absprache mit dem Labor die erforderliche Diagnostik zeitnah einzuleiten.

#### Literatur:

[1] Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T et al (2006) International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost 4:295–306

### Massenspektrometrie zum Nachweis von Giften und Drogen

Prof. Dr. med. Eberhard Wieland

Die Vergiftungs- und Drogenanalytik gehört zum Spektrum eines Labors, das ein Haus der Maximalversorgung mit zentraler Notaufnahme versorgt. Die Analytik wird meist mit immunologischen Methoden im Blut, oder Urin durchgeführt. Für den Nachweis von Drogen in der Notaufnahme gibt es qualitative Urinschnelltests mit einer Ja-/Nein-Antwort.

Für die Analytik von Giften und Drogen im Blut werden im Labor in der Regel immunologische Methoden auf automatisierten Analysengeräten vorgehalten, die analytischer zuverlässiger sind und von geschultem Personal bedient werden, das auch mit der Interpretation der Testergebnisse vertraut ist.

Ein großer Nachteil aller immunologischen Methoden ist die Kreuzreaktivität der eingesetzten Antikörper mit Molekülen, die nicht den Drogen oder Giften zuzuordnen sind. Hierdurch kann es zu falsch positiven Testergebnissen kommen. Mehr als 30 verschiedene Arzneistoffe und ungezählte Naturstoffe können Tests verfälschen, darunter weitverbreitete Mittel wie Hustensäfte, Antibiotika, Kräutermischungen und das Schmerzmittel Ibuprofen. Ergebnisse immunologischer Verfahren haben aufgrund der möglichen falsch positiven Ergebnisse daher nur hinweisenden Charakter und müssen mit einer analytisch zuverlässigeren Methode überprüft werden.

Für die Bestätigung haben wir im Klinikum Stuttgart bisher die Gaschromatographie mit massenpektrometrischer Detektion (GC-MS) eingesetzt. Darüber hinaus gibt es auch falsch negative Ergebnisse und nur für ein überschaubares Spektrum von Analyten überhaupt Immunoassays auf dem Markt. Vor allem in der Drogenanalytik bleibt die Entwicklung der Assays weit hinter Realität zurück, sodass neu Designerdrogen dem Nachweis oft entgehen. Auch um diese Lücke im immunologischen Screening von Urinproben zu schließen eignet sich die GC-MS.

Der größte Nachteil der GC-MS-Technik ist die aufwändige und zeitintensive Probenvorbereitung. Für die gaschromatographische Trennung müssen die Substanzen chemisch verändert werden. Schwerflüchtige, thermolabile und große Moleküle können nicht analysiert werden. Zum Teil lässt sich diese Einschränkung durch Derivatisierung überwinden, die zum Ziel hat, nichtflüchtige zu flüchtigen Substanzen umzusetzen.

Mit der Entwicklung von Massenpektrometern, die an eine Flüssigkeitschromatografie gekoppelt werden können (LC-MS) haben sich neue analytischen Möglichkeiten ergeben.

#### Toxytyper LC-IT/MS

Seit dem 01.03.2017 bieten wir als erstes Labor in der Region die Vergiftungs- und Drogenanalytik im Blut und Urin mit einem hochmodernen Ionenfallen Massenspektrometer (IT/MS) in Verbindung mit Flüssigkeitschromatographie an. Dem sogenannten Toxytyper (Bruker). Mit dem Toxytyper LC-IT/MS Instrument kann die Analytik von Giften, Drogen und Medikamenten ohne langwierige Probenvorbereitung zuverlässig und deutlich schneller als mit der GC-MS schnell erfolgen.

Das Instrument verwendet zum Nachweis der Substanzen eine ultra hoch auflösende Chromatographie (UHPLC) in Verbindung mit der robusten Ionenfallentechnologie. Im Notfall liegen die Ergebnisse nach ca. 2 Stunden vor und sind hochspezifisch und reproduzierbar. Das Spektrum der 4500 nachweisbaren Substanzen reicht von Amphetaminen bis zu Z – Substanzen.



Auch bei der toxikologischen Analytik vor der neurologischen Diagnostik des irreversiblen Hirnausfalls wird mit dieser neuen Technologie ein hohes Maß an Sicherheit erreicht.

### Neue analytische Strategie im Labor

Wir haben mit der Einführung der Toxytyper LC-IT/MS unsere analytische Strategie im Labor umgestellt. Für die Fragestellung des Screenings von Proben unbekanntes Inhalts, werden weiterhin vorab immunologische Methoden wegen der kürzeren Analysenzeiten und der einfachen Durchführbarkeit eingesetzt. Für Blutproben stehen hierfür Methoden zum Nachweis von Benzodiazepinen, Barbituraten und trizyklischen Antidepressiva zur Verfügung. Urinproben werden auf das Vorliegen von Benzodiazepinen, Barbituraten, Opiaten, Cannabis (THC), Cocain und Amphetaminen eingesetzt. Positive Ergebnisse dieser immunologischen Methoden werden nicht automatisch mit dem Toxytyper bestätigt, sondern nur nach Rücksprache und auf konkrete Anforderung durch die Einsender. Angefordert im elektronischen Order-Entry-System Ixserv wird die Analyse **Toxi Screen Urin MS** oder **Toxi Screen Plasma**.

Auch die Ergebnisse des Toxytypers sind qualitativer Natur. Für gezielte Fragestellungen kann auch eine quantitative Analytik angefordert werden, wie das z.B. für die quantitative Bestimmung von Benzodiazepinen und Barbituraten vor der neurologischen Diagnostik des irreversiblen Hirnfunktionsausfalls gefordert wird.

Die mit dem Toxytyper aufgezeichneten Massenspektren werden mit Bibliotheken verglichen, die eine große Menge von Giften, Medikamenten und Drogen abdecken. Besonders für Urinproben ist es sehr wichtig, dass Metaboliten hinterlegt sind, die über die Niere ausgeschieden werden. Das breite Spektrum der Referenzspektren deckt allerdings nicht alle denkbaren Substanzen ab. Neue Designerdrogen entgehen somit oft dem Nachweis bis sie Eingang in die Bibliotheken gefunden haben. Limitationen hat die LC-IT/MS-Methode auch hinsichtlich des Nachweises von größeren Molekülen wie Proteinen und Peptiden. Pflanzengifte wie z.B. Amanitotoxine bei der Knollenblätterpilzvergiftung oder stark wasserunlösliche Alkaloide wie Taxine aus der Eibe, können mit dem Toxytyper nicht nachgewiesen werden. Im konkreten Fall stehen Ihnen für Rückfragen Frau Dr. Maria Shipkova und Herr Dr. Thomas Plecko aus unserem klinisch toxikologischen Labor zur Verfügung (Tel 278-34854).

#### Kontakt:

Redaktion: Dr. med. Maria Shipkova  
Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin mit Laborpraxis,  
Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. Eberhard Wieland  
Zentrum für Diagnostik  
Klinikum Stuttgart, Kriegsbergstraße 60, 70174 Stuttgart  
Tel. 0711 278-34801  
E-Mail: [e.wieland@klinikum-stuttgart.de](mailto:e.wieland@klinikum-stuttgart.de)

[www.klinikum-stuttgart.de](http://www.klinikum-stuttgart.de)  
[www.labor-wieland.de](http://www.labor-wieland.de)