

Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen im Vergleich mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg

**Struktur-/ Funktionsbeziehungen: Aa-Ketten-Verkürzungen
und Cystein-Substituenten
der Aa-, Bb- und g-Kette des Fibrinogens**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Antje Nielsen
geb. Riedemann
aus Kassel

Giessen 2002

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie

Leiter: Prof. Dr. med. H. Pralle
des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Giessen

Gutachterin: Prof. Dr. med. Kemkes-Matthes

Gutachter: Prof. Dr. med. Reiter

Tag der Disputation: 10.03.2003

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Ziel der Arbeit	2
3	Physiologie und Biochemie des Fibrinogens	3
3.1	Fibrinbildung	4
3.1.1	Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin	4
3.1.2	Fibrinpolymerisation	4
3.1.3	Anlagerung der Protofibrillen	5
3.1.4	Fibrinstabilisation	5
3.2	Fibrinolyse	6
3.3	Bindung anderer Substanzen des Blutes und Bindung von Zell-Oberflächen-Proteinen	6
3.3.1	Ca ⁺⁺ -Bindung	6
3.3.2	Bindung von Thrombin an Fibrin	7
3.3.3	Bindung von tissue-type Plasminogen-Aktivator	7
3.3.4	Bindung von Plasminogen	7
3.3.5	Affinität zu Bestandteilen der Zelloberflächen	7
4	Dysfibrinogenämien	9
4.1	Strukturfehler und Funktion	10
4.2	Labor	10
5	Methoden	11
6	Ergebnisse	14
6.1	Eigenanamnese der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen	14
6.1.1	Akuterkrankung und Diagnosestellung	14
6.1.2	Akutoperation unter erster Substitutionsbehandlung	14
6.1.3	Zweiter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung	14
6.1.4	Dritter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung	15
6.1.5	Vierter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung	18
6.1.6	Fünfter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung	18
6.1.7	Schwangerschaft ohne Substitution und Sectio caesarea unter Substitutionsbehandlung	18
6.1.8	Siebter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung	18
6.2	Familienanamnese der Mitglieder der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen	20
6.3	Gerinnungsuntersuchungen bei der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen	21
6.4	Gentechnische Untersuchung zur Charakterisierung des Defektes bei V. a. Vorliegen einer Hypo-/ Dysfibrinogenämie	23
6.5	Bericht über die Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg, Krankheitsverlauf bis 2001	23
6.6	Familienanamnese der Mitglieder der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	25
6.7	Gerinnungsuntersuchungen bei den Familienmitgliedern mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	26
6.8	Gentechnische Untersuchung zur Charakterisierung des Defektes bei der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	26
6.9	Weitere Untersuchungen zu den Funktionsausfällen bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg von Koopman, Sobel und Sugo	27

6.10 Vergleich von Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	31
6.10.1 Untersuchungen zu den Ursachen der unterschiedlichen klinischen Auswirkungen der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen im Vergleich zur Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	31
6.11 Funktionsunterschiede unterschiedlich verkürzter A α -Ketten bei Patienten mit Hypo- und Afibrinogenämien	32
6.11.1 Die Struktur der unterschiedlich verkürzten A α -Ketten der Fibrinogen-moleküle	33
6.11.2 Funktionelle Defekte bei 6 Fibrinogen-Varianten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten	34
6.11.3 Klinische Symptome wie Blutungsneigung und Thromboseneigung bei Patienten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten	35
6.11.4 Gen-Defekte der Fibrinogen-Varianten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten	35
6.11.5 Fibrinogenaktivität und Fibrinogenkonzentration, Ergebnisse der Thrombin- und Reptilasezeitbestimmung bei Patienten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten	36
6.11.6 Analytische Betrachtung der Tabellen	37
6.12 Dysfibrinogenämien mit Cystein-Substitutionen	44
7 Diskussion	47
7.1 Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen	47
7.2 Vergleich mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	48
7.2.1 Thromboseneigung bei Dysfibrinogenämien	48
7.2.2 Funktionsausfälle bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg und Ursachen der Thromboseneigung bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg	49
7.3 Dysfibrinogenämien mit Kettenverkürzungen	51
7.3.1 Struktur-/ Funktionsverlustanalyse der Dysfibrinogene mit Kettenverkürzungen	51
7.4 Ursachen der Hypo- und der Afibrinogenämie	54
8 Zusammenfassung	57
9 Literaturverzeichnis	59

Abkürzungsverzeichnis

aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AT	Antithrombin III
EK	Erythrozytenkonzentrat
ELP	Elastase-like protein
F XIII	Faktor XIII
FGA	Fibrinogen α -Kettengen
FGB	Fibrinogen β -Kettengen
FGG	Fibrinogen γ -Kettengen
FP	Frischplasma
FpA	Fibrinopeptid A
FpB	Fibrinopeptid B
TK	Thrombozytenkonzentrat
t-PA	tissue type plasminogen activator
AS	Aminosäure
TZ	Thrombinzeit

1 Einleitung

Blutgerinnung beruht auf dem Zusammenwirken von vaskulären, zellulären und plasmatischen Komponenten. An der plasmatischen Blutgerinnung sind, soweit bisher bekannt, insgesamt 15 Gerinnungsfaktoren beteiligt. Alle Faktoren sind Proteine; die meisten haben Enzymcharakter. Sie liegen im Plasma in inaktiver Form vor. Nach Anstoßen der Gerinnungskaskade werden sie durch den aktiven Faktor der vorangehenden Reaktion proteolytisch gespalten und aktiviert. Sowohl die endogene als auch die exogene Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems münden in die proteolytische Konversion von Prothrombin zu Thrombin.

Thrombin ist die Serin-Protease, die Fibrinogen zu Fibrin umwandelt, was dann zur Bildung eines Fibrin-Gerinnseis führt. Unter physiologischen Bedingungen laufen die Bildung von Fibrin-Gerinnseisen und deren Auflösung, die Fibrinolyse, parallel zueinander ab. So wird erreicht, daß zur Blutstillung Fibrin gebildet und bei der Wundheilung wieder abgebaut wird, wenn es seine biologische Funktion erfüllt hat. Bei der Aufrechterhaltung dieses Gleichgewichtes zwischen Blutgerinnung und Fibrinolyse hat das Fibrin, bzw. dessen Vorstufe Fibrinogen, eine zentrale Stellung. Fibrin als Endprodukt der Gerinnung und erstes Substrat von Plasmin bei der Fibrinolyse kann das dynamische Gleichgewicht von Gerinnung und Fibrinolyse in beide Richtungen beeinflussen.

Fibrinogen ist ein großes, dimeres Molekül mit einem Molekulargewicht von 340.000, das sich aus 3 Paaren nichtidentischer Polypeptidketten zusammensetzt, den $\alpha\alpha$ -, $\beta\beta$ - und den γ -Ketten, die in einer trinodularen Struktur angeordnet sind.

Bei Dysfibrinogenämien liegen strukturelle Veränderungen des Fibrinogenmoleküls vor, die Funktionsstörungen des Fibrinogens verursachen. Folge können Blutungs- und/oder Thromboseneigung sein. Es handelt sich um angeborene Störungen; bis heute sind mehr als 300 betroffene Familien bekannt. Bei 55% der Betroffenen liegen keine klinischen Symptome vor, 25% der Patienten haben eine Blutungsneigung und bei 20% wird eine Thromboseneigung beschrieben [Mosesson, M. W., 1999].

Durch die unterschiedlichen klinischen Symptome der Patienten können Zusammenhänge zwischen Strukturdefekten und Funktionsstörungen der Fibrinogenmoleküle hergestellt werden.

2 Ziel der Arbeit

1. Dysfibrinogenämien sind besonders interessante Gerinnungsstörungen, weil sowohl Blutungs- als auch Thromboseneigung beschrieben sind. Es sollen die Hämostasedefekte einer Patientin mit stark erniedrigtem Fibrinogen, welches bei einer Routineuntersuchung 1990 anlässlich einer Tibia- und Calcaneusfraktur auffiel, geklärt werden. Nach Charakterisierung des Gendefektes durch M. Meyer, Jena, soll durch Gerinnungsuntersuchungen aller verfügbaren Parameter andere Störungen der Hämostase bewiesen oder ausgeschlossen werden.
2. Bei der Proposita und den Familienangehörigen soll anamnestisch die Neigung zu Blutungen oder zu Thrombosen erfaßt und im positiven Falle mit dem nachgewiesenen Defekt in Beziehung gesetzt werden.
3. Da vermutet wird, daß die Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen verwandtschaftliche Beziehungen zur Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg I hat, wird eine vergleichende Untersuchung mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg in Kooperation mit R. Egbring und K. Rein aus Marburg durchgeführt. Außerdem erfolgt eine Zusammenstellung aller anderen Patienten mit A α -Ketten-Verkürzungen aus der Literatur mit Analyse.
4. Es soll der Zusammenhang zwischen der Albuminbindung an Cysteinreste des Fibrinogens (wie für Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg beschrieben) und der Thromboseneigung untersucht werden. Hierzu erfolgt eine Zusammenstellung beschriebener Dysfibrinogene mit Cystein-Substituenten.
5. Zum Abschluß soll die Bedeutung verschiedener Strukturdefekte einiger Hypo-/ Dysfibrinogenämien, Dysfibrinogenämien oder schwerer Hypofibrinogenämien für die verminderte Fibrinogensekretion diskutiert werden.

3 Physiologie und Biochemie des Fibrinogens

Fibrinogen ist ein großes Molekül mit einem Molekulargewicht von 340.000 Dalton und einer Länge von ~45 nm. Es ist ein symmetrisch aufgebautes Dimer, dessen 2 Hälften durch Disulfidbrücken verbunden sind. Es besteht aus 3 Paaren unterschiedlicher Polypeptide, den α -Ketten (67kD), den β -Ketten (52 kD) und den γ -Ketten (47 kD) (siehe Abb.1 auf S. 8).

Die α -Kette besteht aus 610 Aminosäuren (AS) und die β -Kette aus 461 AS. Die γ -Kette existiert in 2 Varianten: der Major-Form, die zu 90% vorliegt und aus 411 AS besteht, und der Minor-Form, als γ^* bezeichnet, die zu 10% vorliegt und aus 427 AS besteht [Henschen A et al, 1983, Finlayson JS et al 1963, Francis CW, 1980].

Die sechs aminoterminalen (N-terminalen) Regionen der α -, β - und der γ -Ketten sind in der zentralen E-Domäne (Abb. 1: Nr. 1) zusammengefaßt.

Die 4 distalen Domänen (D-Domänen) (Abb. 1: Nr. 2) bestehen jeweils aus der carboxyterminalen (C-terminalen) Region der β - und der γ -Kette. Sie sind gefaltet, um seitliche globuläre (D-) Domänen zu formen, die mit der zentralen E-Domäne durch die spulenartig aufgerollten α -, β - und γ -Ketten (coiled-coil-Region, Abb. 1: Nr. 3) verbunden sind [Doolittle RF, 1984].

Die 410 AS der C-terminalen Regionen der beiden α -Ketten sind ebenfalls gefaltet und bilden mobile α C-Domänen (Abb. 1: Nr. 4), die von den D-Domänen abzweigen und zeitweise im Elektronenmikroskop sichtbar sind (vergl. Abb. 1) [Rocco M, 1992].

Fibrinogen wird in Hepatozyten synthetisiert und liegt im Plasma in einer Konzentration von 150 bis 350mg/dl vor [Doolittle RF, 1984, Henschen A & Mc Donagh J, 1986]. Die Hepatozyten enthalten vorgeformte α -, β - und γ -Ketten. Diese Ketten verbinden sich zu $\alpha\alpha$ -Dimeren und $\beta\beta$ -Dimeren, zu $\alpha\beta\gamma$ -Halbmolekülen und anschließend zu reifem Fibrinogen. Reifes Fibrinogen wird dann als komplettes Molekül sezerniert [Huang S et al, 1993]. Es hat eine Halbwertszeit von 4 Tagen und eine katabole Rate von 25% pro Tag [Mossesson MW, 1999]. Ein separater Pool existiert in den α -Speichergranula in den Thrombozyten. Dies ist ein Anteil von 3% des gesamten Blutfibrinogens. Die α -Ketten des Fibrinogens in den Thrombozyten und die α -Ketten des Plasmafibrinogens sind Produkte eines Gens [Niewiarowski S, 1977].

Die Ketten-Synthese der α -, der β - und der γ -Kette wird von 3 unterschiedlichen Genen kontrolliert, die alle auf Chromosom 4 lokalisiert sind. Die 3 Gene, die die α -Kette (FGA),

die B β -Kette (FGB) und die γ -Kette (FGG) kodieren, befinden sich in einer Region von 50 kb auf dem Chromosom 4q28-q31 [Kant, J et al,1985].

3.1 Fibrinbildung

Die Fibringerinnsel-Bildung basiert auf 3 Schritten:

1. Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin,
2. Fibrin-Monomer-Polymerisation, um überlappende Halbmoleküle zu bilden (doppelt geäderte Fibrin-Protofibrillen),
3. laterale Verbindung von Protofibrillen, um dicke Fibrin-Bündel und Netzwerke zu bilden.

3.1.1 Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin

Die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin erfolgt durch die Thrombin-katalysierte Abspaltung von Peptiden am aminoterminalen Ende der A α - und B β -Ketten (Abb. 1: Nr. 5). Entsprechend ihrer Kettenzugehörigkeit werden diese als Fibrinopeptid A (FpA) und Fibrinopeptid B (FpB) bezeichnet. Thrombin bindet an Fibrinogen und spaltet die 16 aminoterminalen Reste von jeder der beiden A α -Ketten ab. Dies geschieht durch Katalyse der Hydrolyse der Arginin 16-Glycin 17-Peptid-Brücke [Martin PD et al, 1992, Stubb MT et al, 1992].

Auch bei der FpB-Freisetzung wird die Hydrolyse der B β -Kette bei Arginin 14-Glycin 15 durch Thrombin katalysiert, sie verläuft aber langsamer als die FpA-Freisetzung [Doolittle RF et al, 1979, Doolittle RF, 1981]. Nach Abspaltung der Fibrinopeptide (FpA=AS 1-16 der α -Kette, FpB=AS 1-14 der β -Kette) wird das Restmolekül Fibrinmonomer genannt.

Fibrinogen enthält eine Nichtsubstrat-Bindungsstelle für Thrombin in der carboxyterminalen Region jeder γ -Kette (Abb. 1: Nr. 6), die auch F XIII bindet [Mosesson MW, 1997].

3.1.2 Fibrinpolymerisation

Die Fibrinmonomere aggregieren spontan, und es bilden sich überlappende Halbmoleküle. Diese Oligomere wachsen zu langen doppelsträngigen Protofibrillen an. In diesen Prozeß sind 2 unabhängige molekulare Interaktionen involviert:

1. Die Verbindung der Thrombin-aktivierten Polymerisationsstelle in der zentralen E-Domäne (A-Stelle, Abb. 1: Nr. 7) mit der komplementären Stelle der D-Domäne der benachbarten Fibrinmonomere (a-Stelle, Abb. 1: Nr. 8) [Kudryk BJ et al, 1974, Olexa SA, Budzynski AZ, 1980] und die Verbindung der B-Stelle (Abb. 1: Nr. 9) in der zentralen E-Domäne mit der b-Stelle der D-Domäne (Abb. 1: Nr. 10) der benachbarten Fibrinmonomere [Shainoff JR, Dardik BN, 1983].

2. Selbstassoziation von 2 D-Domänen (Abb. 1: Nr. 11) von verschiedenen Molekülen [Mossesson MW et al, 1995].

zu 1.: Nach Abspalten von FpA durch Thrombin wird ein neues aminoterminal Segment der Fibrin- α -Kette (α 16-19) freigelegt mit der Sequenz Arg-Gly-Pro-Arg = A-Stelle [Olexa SA, Budzinski AZ, 1980, Kudryk BJ et al, 1974]. Die A-Stelle besitzt 2 positiv geladene Seitenketten. Zum einen die α -Aminogruppe von α Gly 1 (A α Gly 17) und zum anderen die Guanidin-Gruppe von α Arg 3 (A α Arg 19). Die freie a-Stelle (γ 337-379) [Shimizu A et al, 1992] der D-Domäne, die negativ geladen ist, interagiert mit der freigelegten aminoterminalen Sequenz der A-Stelle, die positiv geladen ist [Doolittle RF, 1979].

Die FpB-Freisetzung verläuft langsamer und wird durch die Fibrin-Polymerisation beschleunigt. Es wird eine neue Polymerisationsstelle der Fibrin- β -Kette freigelegt mit der Sequenz Gly-His-Arg-Pro (β 15-18) = B-Stelle. Die B-Stelle der zentralen E-Domäne interagiert mit der b-Stelle der D-Domäne bei β 397-432 [Blombäck B et al, 1978, Medved et al, 1993]. Diese Interaktion ist nicht unbedingt erforderlich für die laterale Anlagerung der Protofibrillen, aber sie trägt zur Ausrichtung der D-Domänen im Fibrin-Polymer bei [Shainoff JR, Dardik BN, 1983].

3.1.3 Anlagerung der Protofibrillen

Wenn doppelsträngige Fibrin-Protofibrillen sich longitudinal ausbreiten und eine bestimmte Länge erreichen, lagern sie sich mit anderen zusammen und bilden dicke, verdrehte Fibrinfasern und dann Fibrinbündel. Außerdem verzweigen sie sich an verschiedenen Punkten und formen Fibrin-Netzwerke [Baradet TC et al, 1995].

Nach der Freisetzung von FpB lösen sich die carboxyterminalen Segmente der α -Kette (α C-Domänen) von den E-Domänen. Die gelösten α C-Domänen interagieren mit den α C-Domänen der anderen Protofibrillen. und es bilden sich dicke Fibrinfasern und Bündel [Veklich YI et al, 1993]. Der genaue Mechanismus ist noch ungeklärt. Viele Interaktionsstellen sind auf den α C-Domänen (A α 220-610) lokalisiert, z. B. beeinträchtigt das Fehlen von Interaktionsstellen bei Hypodysfibrinogenen mit verkürzten α -Ketten die laterale Assoziation (vergl. 7.3.1) [Koopman J et al, 1992b].

3.1.4 Fibrinstabilisation

Mit Hilfe von Faktor XIIIa und Calciumionen erfolgt dann die Stabilisation des Fibrinnetzes. F. XIIIa bewirkt die Ausbildung C-N kovalenter Brücken der Aminogruppe von Lysin und der Amidgruppe von Glutamin zwischen den γ -Ketten unterschiedlicher Moleküle [Matatic S,

1968]. Die etwas später einsetzende Quervernetzung der α -Ketten bewirkt die endgültige Stabilisation. Das Fibringerinnsel wird so im Plasma unlöslich.

3.2 Fibrinolyse

Gerinnungsbildung und deren Auflösung, die Fibrinolyse, stehen miteinander in einem dynamischen Gleichgewicht.

Sowohl Fibrinogen als auch Fibrin können durch die Protease Plasmin abgebaut werden. Plasmin liegt im Blut und im Gewebe als inaktive Vorstufe, Plasminogen, vor. Die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin kann durch verschiedene Aktivatoren erfolgen: Zum einen durch tissue-type Plasminogen Aktivator (t-PA) (Abb. 1: Nr. 12), zum anderen durch Urokinase-type Plasminogen Aktivator (U-PA). Im Gefäßsystem ist die t-PA vermittelte Plasminogen Aktivierung vorherrschend. Plasmin spaltet das Fibrin an bestimmten Spaltstellen, von denen eine in der $A\alpha$ -Kette am carboxyterminalen Ende zwischen AS 197-253 und eine am aminoterminalen Ende der $B\beta$ -Kette liegt [Takagi T, Doolittle RF, 1975]. Zusätzlich sind die geraden Strecken der spulenartigen Stränge zwischen der D- und E-Domäne, die coiled-coil-Regionen, als Spaltstellen bekannt. Die gespaltenen Fibrinreste werden Fibrinabbauprodukte genannt und sind im Plasma löslich.

Auch Elastase kann Fibrin(ogen)moleküle spalten. Es werden vorwiegend die α - und die β -Kette gespalten, die γ -Kette ist kaum durch Elastase spaltbar [Gramse M et al, 1978].

Die Inhibition der Fibrinolyse erfolgt durch Plasminogen-Aktivator-Inhibitoren (PAI) oder durch α_2 -Antiplasmin.

3.3 Bindung anderer Substanzen des Blutes und Bindung von Zell-Oberflächen-Proteinen

3.3.1 Ca^{++} -Bindung

Die Ca^{++} -Bindungsstelle mit hoher Affinität ist bei γ 311-336 lokalisiert und ist getrennt von der α -Polymerisationsstelle, die bei γ 337-379 liegt [Dang CV et al, 1985]. Ein Verlust der Ca^{++} -Bindungskapazität scheint die stabile Struktur der α -Stelle zu beeinträchtigen, was die Fibrinpolymerisation stört [Côté HCF et al, 1997].

3.3.2 Bindung von Thrombin an Fibrin

Nach Abspaltung von FpA und FpB wird eine neue Thrombin-Bindungsstelle freigelegt. Auf diese Weise wird Thrombin, das bei der Gerinnung gebildet wird, an die bereits formierten Fibringerinnsel gebunden [Matsuda M, 1999].

3.3.3 Bindung von tissue-type Plasminogen-Aktivator

Nach Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin werden 2 Bindungsstellen für t-PA freigelegt, und es wird die „intrinsic-Fibrinolyse“ initiiert. Eine Stelle liegt bei A α 148-160 und die andere bei γ 311-336 [Voskuilen M et al, 1987, Yonekawa O et al, 1992]. Während der Fibrin-Bildung bindet t-PA an seine spezifischen Bindungsstellen und katalysiert die Konversion von Plasminogen zu Plasmin. Damit Fibrin die t-PA-vermittelte Plasminogenaktivierung fördern kann, ist mindestens eine doppelsträngige Protofibrille erforderlich [Suenson E et al, 1990].

3.3.4 Bindung von Plasminogen

Plasminogen bindet an Fibrin(ogen) im Bereich der D- und der E-Domäne [Varadi A, Patthy L, 1983]. Das an Fibrinogen gebundene Plasminogen wird zu Plasmin aktiviert, wenn Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt wird und t-PA gebunden hat.

Auch die Fibrinogen- α C-Domänen enthalten verborgene Plasminogen- und t-PA- Bindungsstellen, die nach der Umwandlung zu Fibrin freigelegt werden [Tsurupa G, Medved L, 2000].

3.3.5 Affinität zu Bestandteilen der Zelloberflächen

Jede A α -Kette hat 2 Arg-Gly-Asp-Sequenzen. Eine befindet sich bei A α 95-97 und eine bei A α 572-574. Diese Sequenzen (RGD-Sequenzen) sind wichtig für die Bindung an Zelloberflächen von Thrombozyten und Endothelzellen [Dejana E et al, 1985, Asakura S et al, 1997]. Die Freilegung der α C-Domänen durch Konversion zu Fibrin scheint eines oder beide RGD-Segmente freizulegen. Andere Untersuchungen belegen, daß es noch eine weitere Bindungsstelle für Endothelzellen geben muß, die in der D-Domäne liegt. Sie soll bei γ 400-411 liegen [Denninger et al, 1987, Smith et al, 2000].

4 Dysfibrinogenämien

Insgesamt sind bis heute mehr als 300 Familien mit Dysfibrinogenämien bekannt. Etwa 170 Fibrinogen-Varianten sind strukturell untersucht. Bei 100 davon liegt der Defekt in der $A\alpha$ -Kette, bei 17 in der $B\beta$ -Kette und bei 53 in der γ -Kette. Einige Mutationen sind identisch, es bleiben 65 unterschiedliche, von denen 24 in der $A\alpha$ -Kette liegen, 11 in der $B\beta$ -Kette und 30 in der γ -Kette.

Die häufigsten Mutationen befinden sich im N-terminalen Bereich der $A\alpha$ -Kette und betreffen die Position $A\alpha$ 16 (67 Punktmutationen Arg→Cys oder Arg→His). Ebenfalls sehr häufig sind Strukturdefekte in der carboxyterminalen Region der γ -Kette an Position γ 275 (22 Punktmutationen Arg→Cys oder Arg→His). Die beiden zugeordneten Stellen im FGA oder FGG entsprechen C6 „hot spots“, die sehr anfällig für Mutationen sind. Die $A\alpha$ 16-Mutation führt bei 31% der Betroffenen zu Blutungsneigung. Mutationen von γ 275 sind in 29% mit Thrombophilie assoziiert [Hanns M, Biot F, 2000].

Dysfibrinogenämien mit Defekten im carboxyterminalen Bereich der $A\alpha$ -Ketten sind selten. Bisher sind z. B. Fibrinogen Dusart ($A\alpha$ 554 Arg→Cys) mit Thromboseneigung [Koopman J et al, 1993] und Fibrinogen Caracas II ($A\alpha$ 434 Ser→N-glykosyliertesAsn) ohne klinische Symptome [Maekawa H et al, 1991] bekannt. Am seltensten sind Strukturdefekte der $B\beta$ -Kette, die dann meist im N-terminalen Bereich liegen, z. B. $B\beta$ 14 Arg→Cys mit Thromboseneigung.

Mutationen, z. B. Punktmutationen, Insertionen oder Deletionen können zur Entstehung eines Stop-Codons führen. Dies verursacht eine Verkürzung der entsprechenden Fibrinogen-Kette. Durch diese Kettenverkürzungen und die nachfolgenden Funktionsausfälle kann man Zusammenhänge zwischen Funktion und der dafür verantwortlichen Struktur im Molekül ableiten. Verkürzungen können bei allen 3 Fibrinogenketten auftreten, den $A\alpha$ -, den $B\beta$ - und den γ -Ketten.

In den Fällen, in denen eine Familienuntersuchung durchgeführt worden ist, zeigt sich, daß Dysfibrinogenämien autosomal oder intermediär dominant vererbt werden [Dissertation Köther M, 1989]. 10% der betroffenen Patienten sind homozygot für den strukturellen Defekt, das heißt, im Plasma liegt nur abnormales Fibrinogen vor. Bei 90% der Patienten liegt der strukturelle Defekt heterozygot vor. Im Plasma sind dann sowohl normales als auch abnormales Fibrinogen vorhanden.

Die Hälfte der Patienten mit bekannten Dysfibrinogenämien sind asymptomatisch. 25% der Patienten zeigen eine Blutungs- und 20% eine Thromboseneigung [Mosesson, M. W., 1999].

Sehr selten treten Blutungs- und Thromboseneigung nebeneinander auf. Die meisten Dysfibrinogenämien werden jedoch erst bei auftretenden Komplikationen diagnostiziert, so daß der Anteil der asymptomatischen Patienten wahrscheinlich noch höher ist.

4.1 Strukturfehler und Funktion

Der Strukturfehler bei Dysfibrinogenämien kann zu Störungen der Funktion des Fibrin(ogen)moleküls führen.

Folgende Funktionen können gestört sein:

1. die Fibrinopeptidfreisetzung,
2. die Fibrinpolymerisation,
3. die Fibrinstabilisation,
4. die Fibrinolyse,
5. die Bindung von Ca^{++} ,
6. die Bindung von Thrombozyten,
7. die Bindung von Endothelzellen.

Die häufigsten Defekte liegen im Bereich der Fibrinopeptid-Freisetzung oder der Fibrinpolymerisation.

4.2 Labor

Die Mehrzahl der Patienten mit Dysfibrinogenämien wird zufällig bei Routine-Gerinnungskontrollen durch eine verlängerte aPTT und eine Quick-Erniedrigung sowie durch eine verlängerte Thrombinzeit bei normaler Konzentration der Gerinnungsfaktoren V, VII, X und XII auffällig. Zudem zeigt sich eine Differenz zwischen funktionell und immunologisch bestimmtem Fibrinogen. Nachfolgend wird das funktionell bestimmte Fibrinogen als Fibrinogen-Aktivität bezeichnet und das immunologisch bestimmte Fibrinogen als Fibrinogen-Konzentration. Bei Dysfibrinogenämien liegt die Fibrinogen-Konzentration im Normbereich, die Fibrinogen-Aktivität liegt jedoch signifikant niedriger.

Ein kleiner Teil der Fibrinogenvarianten geht gleichzeitig mit einer Verminderung der Fibrinogen-Konzentration einher (ca. 10%). Sie werden deshalb Hypo-/ Dysfibrinogenämien genannt.

5 Methoden

Die Anamnesen und die Familienanamnesen der Familien mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen und Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg wurden durch persönliche Gespräche und Auswertung der Krankenakten erhoben und im Fall von Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg durch die verschiedenen Veröffentlichungen ergänzt. Alle Ergebnisse wurden den Personen, die untersucht wurden, mitgeteilt.

Blut wurde durch Venenpunktion gewonnen. Als Antikoagulanzen wurde Natriumcitrat im Verhältnis von 9 Teilen Blut zu einem Teil Citrat verwandt. Das mit Citrat antikoagulierte Blut wurde in einer Laborzentrifuge bei 4200 Umdrehungen 10 Minuten lang zentrifugiert. Außerdem wurde mit Kalium-EDTA antikoaguliertes Blut bei -40°C eingefroren und zur molekularen biologischen Untersuchung zu Herrn Prof. Dr. med. M Meyer, Fachhochschule Jena, geschickt.

Die folgenden Laborparameter wurden mit Hilfe des Gerinnungslabors der Medizinischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Giessen bestimmt.

Die Thrombinzeit (TZ) wurde mit BC-Thrombin-Reagenz[®] der Firma Dade Behring Marburg GmbH bestimmt. Eine Bestimmung erfolgte im BCS-Analyseautomaten der Firma Dade Behring, eine weitere Bestimmung von Hand im Wasserbad.

Testprinzip:

Thrombin wandelt das in der Plasmaprobe enthaltene Fibrinogen in Fibrin um, wodurch ein Gerinnsel entsteht. Es wird die Zeit bis zur Gerinnselbildung gemessen [Sirridge MS, 1974].

Die Reptilasezeit wurde mit STA[®] Reptilase der Firma Diagnostica Stago/Roche bestimmt.

Testprinzip:

Die Zugabe von STA[®]-Reptilase zu Citratplasma bewirkt die Abspaltung von Fibrinopeptid A vom Fibrinogenmolekül mit nachfolgender Polymerisation der Des-A-Monomere bis zur Bildung eines Fibringerinnsels. Gemessen wird die Zeit von der Reagenzpipettierung bis zur Gerinnselbildung [Hubbuch A et al, 1997].

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) wurde im BCS und im Wasserbad von Hand bestimmt. Die Bestimmung erfolgte mit Pathrombin SL[®] der Firma Dade Behring Marburg GmbH.

Testprinzip:

Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge an Phospholipiden und einem Oberflächenaktivator führt zur Aktivierung von Faktoren des endogenen (intrinsischen) Gerinnungssystems. Durch Zugabe von Calcium-Ionen wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst; gemessen wird die Zeit bis zur Bildung eines Fibringerinnsels [Poller L, Thomson JM, 1992].

Die Thromboplastinzeit (TPZ) wurde mit Thromborel S[®] nach Quick der Firma Dade Behring Marburg GmbH im BCS bestimmt.

Testprinzip:

Durch Inkubation von Plasma mit der optimalen Menge Thromboplastin und Calcium wird der Gerinnungsvorgang ausgelöst; die Zeit bis zur Bildung des Fibringerinnsels wird gemessen und in Prozent der Norm umgerechnet [Quick AJ, 1935].

Die Fibrinogen-Aktivität wurde mit Multifibren U[®] der Firma Dade Behring Marburg GmbH modifiziert nach Clauss bestimmt.

Testprinzip:

Citrat-Plasma wird mit einem großen Überschuß an Thrombin zur Gerinnung gebracht. Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab [Cooper J, Douglas AS, 1991].

Dieser Wert spiegelt die Fibrinogen-Aktivität wieder, obwohl als Ergebnis der Messung eine Konzentrationsangabe erfolgt.

Die Fibrinogen-Konzentration wurde mit NOR-Partigen[®] Fibrinogen der Firma Dade Behring Marburg GmbH bestimmt.

Testprinzip:

Das im menschlichen Plasma enthaltene zu bestimmende Protein bildet mit spezifischen Antikörpern im Agarosegel der Partigen-Platten Immunkomplexe, die als kreisförmige Präzipitate sichtbar werden (radiale Immundiffusion). Der Durchmesser des Präzipitatrings ist direkt proportional der Konzentration des jeweiligen Proteins in der Probe. Die Umrechnung in mg/dl erfolgt über eine Bezugswertetabelle [Becker W, 1980].

Plasminogen wurde mit Berichrom[®] Plasminogen der Firma Dade Behring Marburg GmbH im BCS bestimmt.

Testprinzip:

Das Plasminogen der Probe wird durch vorgelegte Streptokinase in einen Komplex überführt. Dieser Komplex wird in einem kinetischen Test mit Extinktionszunahme bei 405 nm bestimmt. [Soria J et al, 1978].

Antithrombin wurde mit Berichrom[®] Antithrombin III (A) der Firma Dade Behring Marburg GmbH im BCS bestimmt.

Testprinzip:

Das Antithrombin der Probe wird durch Heparin in einen Sofort-Inhibitor überführt und inaktiviert vorgelegtes Thrombin. Der Rest-Thrombin-Gehalt wird in einem kinetischen Test mit Extinktionszunahme bei 405 nm bestimmt. Die Extinktion nimmt linear mit dem in der Patientenprobe vorliegenden Antithrombin ab [Frantzen Handeland G et al, 1983].

Die Untersuchung zur Charakterisierung des Gendefektes wurde mittels DNA-Sequenzanalyse von Herrn Prof. Dr. med. M Meyer von der Fachhochschule Jena durchgeführt. Hierzu wurde DNA isoliert, mittels PCR (polymerase chain reaction) wurden die veränderten Genabschnitte der DNA des abnormalen Fibrinogens amplifiziert. Durch SSCP- (single strand conformation polymorphism) bzw. DGGE- (denaturing gradient gel electrophoresis) Analyse wurden homo-und heterozygote Träger identifiziert. Nach Reinigung der PCR-Produkte folgte die DNA-Sequenzanalyse [Meyer M et al, 2000].

6 Ergebnisse

6.1 Eigenanamnese der Proposita mit Hypo-/Dysfibrinogenämie Giessen

6.1.1 Akuterkrankung und Diagnosestellung

Die Patientin wurde als dritte von 4 Geschwistern geboren. Bis zum 22. Lebensjahr fielen lediglich eine Hämatomneigung und gelegentliche Epistaxis auf. Die Menarche erfolgte mit 17 Jahren nach Hormonbehandlung. Die Menstruationsblutung sei nicht verstärkt, Zahnextraktionen seien bisher nicht durchgeführt worden, beim Verlust der Milchzähne wären keine verstärkten Blutungen aufgetreten. Nach Schnittverletzungen käme es zu keinen wesentlichen Nachblutungen. Am 06.04.1990 wurde die heute 33jährige Patientin im Alter von 22 Jahren bei einem Verkehrsunfall verletzt. Sie erlitt eine Tibiakopffraktur rechts, eine offene Calcaneusfraktur links und ein Monokelhämatom mit Hämatosinus rechts. Bei den Routine-Laboruntersuchungen fiel eine bisher unbekannte Blutgerinnungsstörung auf. Der Quick-Wert lag bei 20%; die aPTT war auf 66,9s, die Thrombinzeit auf 72,9s und die Reptilasezeit auf 80s verlängert. Die Fibrinogen-Aktivität war mit 25mg/dl niedriger als die Fibrinogen-Konzentration, die 70mg/dl betrug. Außerdem war die Fibrinogen-Konzentration niedriger als normal. Aufgrund dieser Laborparameter wurde durch Frau Professor Kemkes-Matthes aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin in Giessen die Diagnose einer Hypo-/ Dysfibrinogenämie gestellt [Kemkes-Matthes B, 1990]. Alle folgenden Maßnahmen, wie z. B. operative Eingriffe, wurden in Kooperation mit dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin durchgeführt und die Patientin wurde durch die hämostaseologische Ambulanz betreut.

6.1.2 Akutoperation unter erster Substitutionsbehandlung

Die Reposition der offenen Calcaneusfraktur und die Fixation mit Kirschnerdrähten erfolgten am Unfalltag. Aufgrund des niedrigen Fibrinogens wurden Frischplasmen substituiert (s. Abb. 2). Anfangs erfolgte die Gabe von Heparin i.v. bis zum 23.4.90. Ab 26.04.90 wurde niedermolekulares Heparin sc. gegeben. Die Patientin wurde vom 09.04.90 bis zum 24.04.90 mit Diclofenac behandelt. Am 11.04.90 wurde bei Wundheilungsstörung an der rechten Ferse und Verdacht auf Phlebothrombose des rechten Beines eine Phlebografie durchgeführt, die einen Normalbefund an Ober- und Unterschenkel ergab.

6.1.3 Zweiter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung

Da für den 24.04.90 die Osteosynthese der Tibiakopffraktur und die Spülung des Hämatosinus geplant waren, wurde am 19.04.90 mit der Substitution von Frischplasmen und Erythro-

zytenkonzentraten begonnen. Am 20.04.90 wurden Frischplasmen und Fibrinogen gegeben. Ab dem 21.04. wurde nur Fibrinogen substituiert. Ab 23.04.90 kam es zu anhaltenden Temperaturerhöhungen unklarer Ursache. Die OP wurde am 24.04.90 wie geplant durchgeführt, nachdem die Fibrinogen-Aktivität auf 107mg/dl angehoben worden war (s. Abb. 3). Am nächsten Tag kam es zum Auftreten eines allergischen Exanthems, Dyspnoe und Schüttelfrost. Daraufhin wurde die Substitution mit Fibrinogen am 27.04.90 eingestellt, unter der Verdachtsdiagnose einer allergischen Reaktion auf Fibrinogen. Vom 04.05.90 bis zum 06.05.90 erfolgte die Substitution durch Frischplasmen (s. Abb. 4), die jedoch kaum Anstiege der Fibrinogen-Aktivität zur Folge hatten.

6.1.4 Dritter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung

Am 29.05 wurden die Spickdrähte an der linken Ferse nach erneuter Gabe von 4 Frischplasmen entfernt. Die Fibrinogen-Aktivität lag vor Substitution bei 7mg/dl und nach Gabe von 4 Frischplasmen bei 23mg/dl (s. Abb. 5). Am 08.06.90 wurde die Patientin entlassen.

Krankheitsverlauf	Datum	Krankenhausaufenthalt
Akuterkrankung und Diagnosestellung	06.04.1990	1. stationärer Aufenthalt vom 06.04.-08.06.1990
Akutoperation unter 1. Substitutionsbehandlung	06.04.1990	
Zweiter operativer Eingriff unter Substitution	24.04.1990	
Dritter operativer Eingriff unter Substitution	29.05.1990	
Vierter operativer Eingriff unter Substitution	31.01.1992	2. stationärer Aufenthalt vom 27.01-05.02.1992
Fünfter operativer Eingriff unter Substitution	25.01.1993	3. stationärer Aufenthalt vom 20.01.-30.01.1993
Sectio caesarea unter Substitution	29.01.1996	4. stationärer Aufenthalt vom 25.01-07.02.1996
Siebter operativer Eingriff unter Substitution	16.03.2000	5. stationärer Aufenthalt vom 13.03-24.03.2000

Tabelle 1: Die wichtigsten Daten der Epikrise der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen in einer Übersicht.

Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen

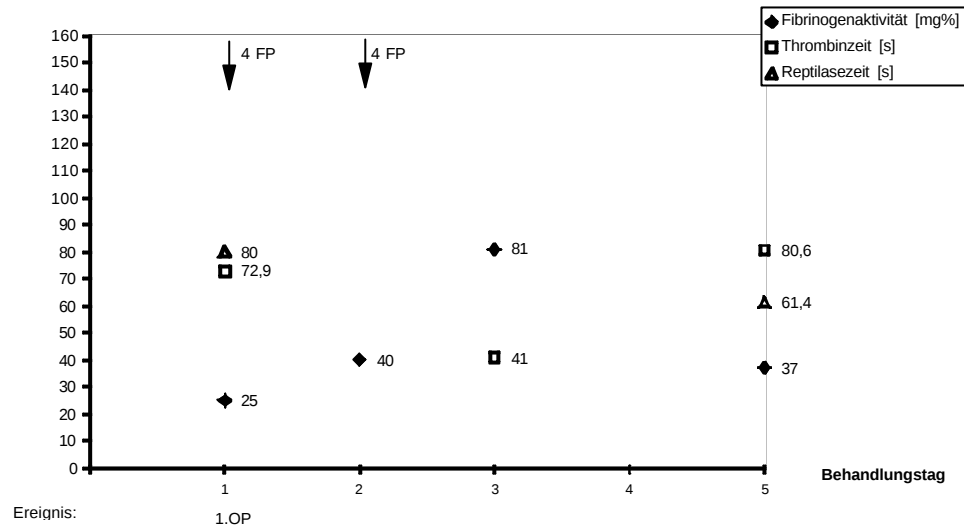


Abbildung 2 zeigt die erste Substitution mit 8 FP sowie die gemessene Fibrinogen-Aktivität, Thrombinzeit und Reptilasezeit am Tag der Operation am 06.04.1990 und postoperativ.

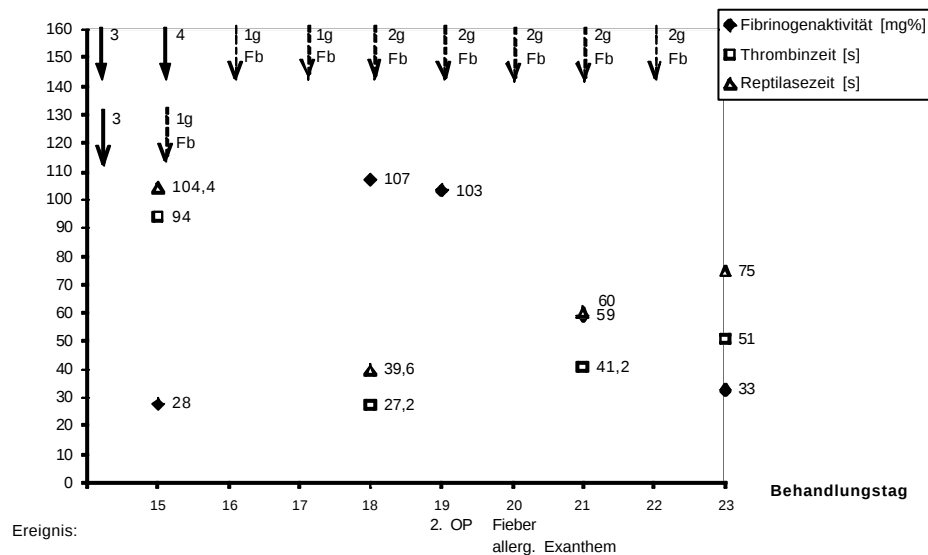


Abbildung 3 zeigt die Substitution mit FP und Fibrinogen sowie die Fibrinogen-Aktivität vor und nach der Operation am 24.04.1990.

Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen

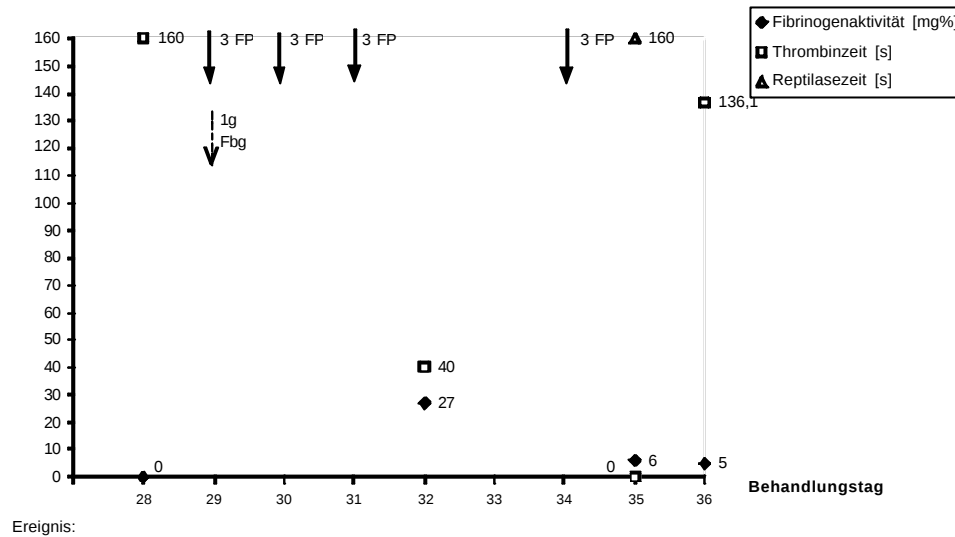


Abbildung 4 zeigt die Substitution mit FP und Fibrinogen vom 03.05. bis 11.05.1990 während des ersten stationären Aufenthaltes.

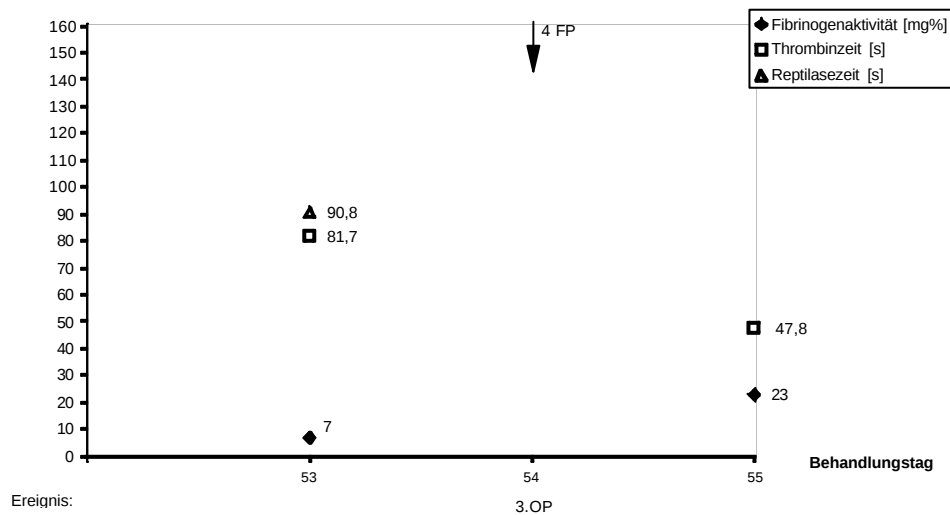


Abbildung 5 zeigt die Substitution mit FP und die Fibrinogen-Aktivität vor und nach der Operation am 29.05.1990.

6.1.5 Vierter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung

2 Jahre später, am 31.01.92, erfolgten eine geplante Metallentfernung am rechten Knie und eine vordere Kreuzbandplastik. Die Patientin wurde am 27.01.92 stationär aufgenommen. Zur OP-Vorbereitung wurden Frischplasmen gegeben. Am OP-Tag betrug die Fibrinogen-Aktivität 100mg/dl (s. Abb. 6). Am 02.02. wurden wegen Auftretens eines allergischen Exanthems nur noch ein Frischplasma und 100mg Soludecortin verabreicht. Am 05.02.92 konnte die Patientin bei ansonsten komplikationslosem Verlauf entlassen werden. Zur Nachbehandlung trug die Patientin 8 Wochen einen Gipstutor über dem rechten Kniegelenk, der die Kniebeugung verhinderte.

6.1.6 Fünfter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung

Am 25.01.93 folgte die nächste Metallentfernung am rechten Knie. Die Patientin wurde am 20.01.93 stationär aufgenommen, und die Fibrinogen-Aktivität wurde durch die Gabe von Frischplasmen bis zum OP-Tag auf 121mg/dl angehoben (s. Abb. 7). Am 25.01.93 kam es erneut zum Auftreten eines allergischen Exanthems, das mit Corticoiden und Antihistaminika behandelt wurde. Am 30.01.93 wurde die Patientin entlassen.

6.1.7 Schwangerschaft ohne Substitution und Sectio caesarea unter Substitutionsbehandlung

1995 wurde die Patientin schwanger. Während der Schwangerschaft kam sie, abgesehen von der gynäkologischen Betreuung, auch zu regelmäßigen Kontrollen in die hämostaseologische Ambulanz. Die Schwangerschaft verlief normal. Am 25.01.96 wurde sie in der 37. Schwangerschaftswoche stationär in der Frauenklinik aufgenommen. Ab 26.01. wurden Frischplasmen gegeben, auf die die Patientin mit Schüttelfrost reagierte (s. Abb. 8). Am 29.01.96 erfolgte nach Anheben der Fibrinogen-Aktivität auf 100mg/dl die Sectio caesarea bei Präeklampsie. Die Patientin verlor nach der Sectio insgesamt 800ml Blut durch eine uterine Blutung. Auch während und nach der Operation erfolgte die Gabe von Frischplasmen. Postoperativ wurde die Patientin wegen eines Lungenödems 18 Stunden beatmet. Am 07.02.96 konnten die Patientin und ihre Tochter nach einem sonst komplikationslosen Verlauf entlassen werden.

6.1.8 Siebter operativer Eingriff unter Substitutionsbehandlung

4 Jahre später wurde die Patientin wegen eines Ovarialtumors rechts am 16.03.2000 laparatomiert. Die Fibrinogen-Substitution erfolgte unter Vollnarkose, um das Auftreten von allergischen Reaktionen zu vermeiden. Die Exstirpation von Tube und Ovar rechts verlief komplikationslos. Es wurde ein reifes Teratom diagnostiziert. Am 24.03.2000 konnte die Patientin entlassen werden.

Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen

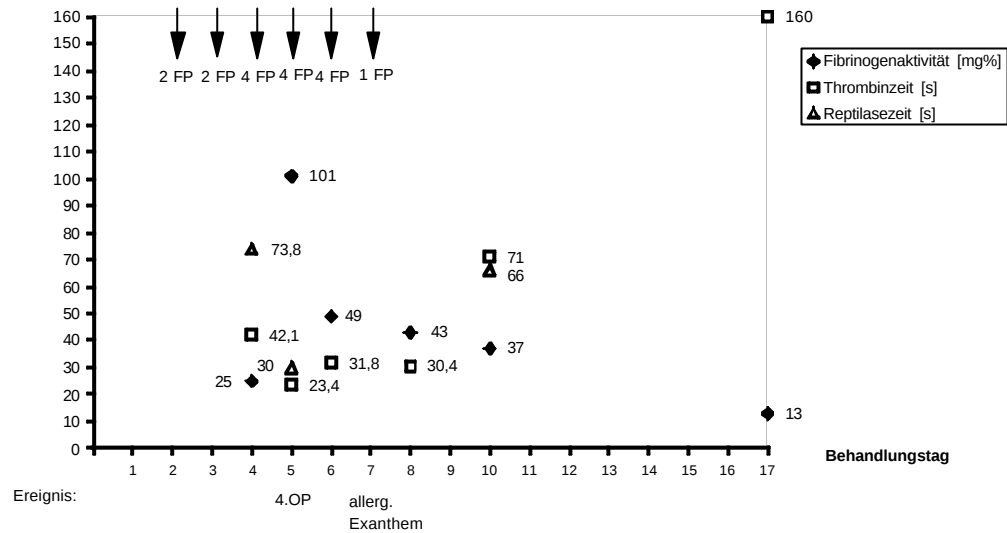


Abbildung 6 zeigt den Verlauf der Substitution mit FP vor und nach der Operation am 31.01.1992.

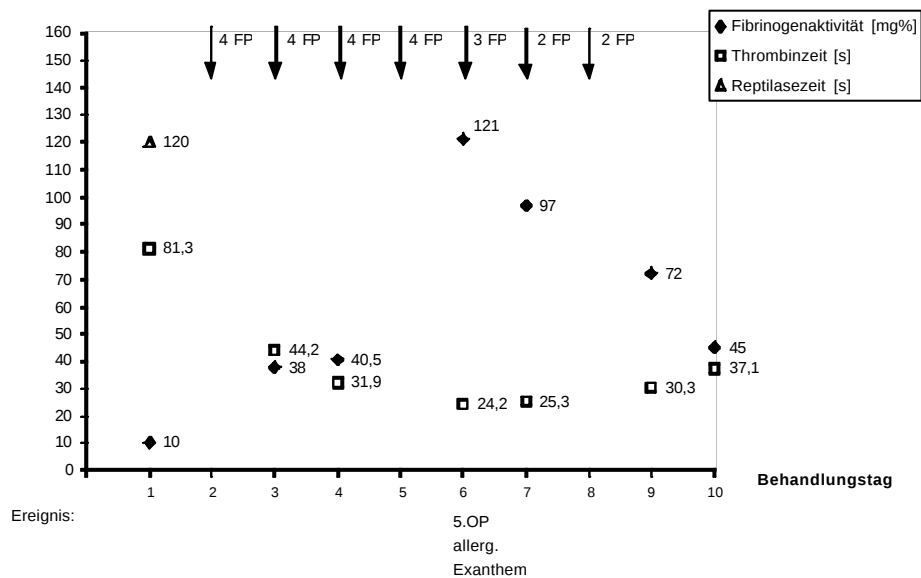


Abbildung 7 zeigt den Verlauf der Substitution mit Frischplasmen vor und nach der Operation am 25.01.1993.

Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen

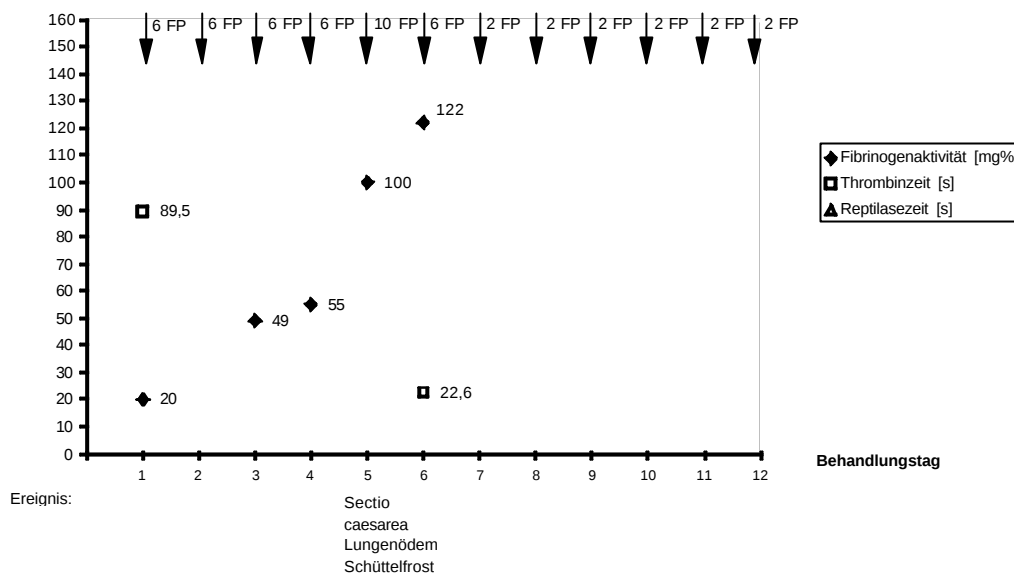


Abbildung 8 zeigt den Verlauf der Substitution vor, während und nach der Entbindung eines Mädchens durch Sectio caesarea am 29.06.1996.

6.2 Familienanamnese der Mitglieder der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen

Beim Vater der Proposita (66 J) sind seit vielen Jahren eine arterielle Hypertonie und eine Hyperlipidämie bekannt. 1990 erlitt er einen Apoplex bei Carotissklerose rechts und wurde an der rechten A. Carotis operiert. 1998 erlitt er einen Herzinfarkt und unterzog sich einer Bypass-Operation. Er gibt an, bei Zahnextraktionen und Schnittverletzungen sei es zu keinen verstärkten Nachblutungen gekommen, eine Hämatomneigung wird verneint.

Bei der Mutter (63 J) kam es 1960 zu einer starken Blutung nach einer Zahnextraktion. Außerdem litt sie häufig unter Nasenbluten, und sie gibt an, eine Hämatomneigung zu haben. Sie hat 4 Kinder geboren. Die Schwangerschaften und die Geburten verliefen ohne Komplikationen. Die Menstruationsblutungen seien nicht verstärkt gewesen, und nach Schnittverletzungen komme es nicht zu verstärkten Nachblutungen. Sie leidet unter Varikosis, die am linken Bein ausgeprägter als am rechten Bein ist. 1997 wurde eine Venen-Operation am linken Bein durchgeführt. Außerdem leidet sie unter Coxarthrose beidseits, die linke Hüfte wurde 1995 operiert. Alle diese Operationen verliefen ohne Komplikationen.

Bei der älteren Schwester der Patientin (39 J) gibt es keinen Hinweis auf eine Blutungsneigung oder Thrombophilie. Sie hat zwei Kinder geboren, die Schwangerschaften und Geburten verliefen normal. 1990 wurde eine Gelbkörperzyste am Ovar operiert, die während der ersten Schwangerschaft entdeckt worden war.

Der ältere Bruder der Patientin (40 J) berichtet, er habe keine Hämatomneigung und auch keine verstärkten Nachblutungen nach Schnittverletzungen beobachtet. Er leide häufiger unter Nasenbluten. Eine Leistenhernien-Operation und die Extraktion der Weisheitszähne verliefen komplikationslos.

Der jüngere Bruder der Patientin (30 J) gibt an, keine Hämatomneigung bemerkt zu haben, auch er leide häufig unter Nasenbluten, es sei auch schon eine Verödung beim Hals-Nasen-Ohrenarzt durchgeführt worden. Ein arterieller Hypertonus ist seit einigen Jahren bekannt.

6.3 Gerinnungsuntersuchungen bei der Familie mit Hypo-/Dysfibrinogenämie Giessen

Bei der Familienuntersuchung werden die Proposita, die Eltern und die drei Geschwister untersucht. Die Tochter der Patientin wurde 1998 untersucht, und die damals erhobenen Werte wurden der Tabelle hinzugefügt (siehe Tabelle 2).

Bei der Proposita ist die Fibrinogen-Aktivität auf 60mg/dl vermindert, die Fibrinogen-Konzentration liegt mit 110mg/dl zwar höher als die Fibrinogen-Aktivität, aber deutlich unter dem Normbereich. Die Thrombinzeit und die Reptilasezeit sind mit >120 sec stark verlängert. Die Prothrombinzeit ist mit >120 sec deutlich verlängert, der Quick-Wert (TPZ) liegt bei <5% und ist somit stark vermindert. Der Quick-Wert und die aPTT sind wegen des Fibrinogenmangels verändert, bei Zusatz von Fibrinogen sind beide Bestimmungen im Normbereich. Antithrombin und Plasminogen liegen im Normbereich, wie auch bei allen anderen untersuchten Familienangehörigen.

Beim Vater der Proposita liegt die Fibrinogen-Aktivität bei 270mg/dl und die Fibrin-Konzentration bei 380mg/dl. Die Thrombinzeit ist auf 27 sec, die Reptilase-Zeit auf 23 sec. und die Prothrombinzeit auf 52 sec verlängert.

Bei der Mutter liegt die Fibrinogen-Aktivität bei 320mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration bei 410mg/dl. Die Thrombinzeit liegt im Normbereich bei 20 sec, die Reptilase-Zeit ist leicht verlängert auf 22 sec.

Bei der Schwester liegen alle Werte im Normbereich, abgesehen von einer leicht verlängerten Prothrombinzeit. Die Differenz zwischen Fibrinogen-Aktivität und Fibrinogen-

Konzentration ist nicht so groß wie bei den übrigen Angehörigen. Die Fibrinogen-Aktivität beträgt 310mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration 360mg/dl, die Thrombinzeit liegt bei 18 sec und die Reptilase-Zeit ebenfalls bei 18 sec.

Beim älteren Bruder liegt die Fibrinogen-Aktivität bei 300mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration bei 390mg/dl. die Thrombinzeit ist grenzwertig erhöht mit 22 sec, ebenso wie die Reptilase-Zeit mit 21 sec.

Beim jüngeren Bruder beträgt die Fibrinogen-Aktivität 220mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration 300mg/dl, Die Thrombinzeit ist mit 24 sec leicht verlängert, wie auch die Reptilase-Zeit mit 23 sec.

	aPTT (26-36) [sec]	APTT *1 [sec]	Quick (70-130) [%]	Fbg-Akt. (180-350) [mg/dl]	Fbg-Konz. (180-350) [mg/dl]	TZ (<21) [sec]	TZ *2 [sec]	Reptilase (<20) [sec]
Proposita Fbg Giessen	>120	61	<5	<60	110	>120	155	>120
Mutter heterozygot	28	34	101	320	410	20	31	22
Vaterheterozygot	52	60	95	270	380	27	35	23
Schwester negativ	40	47	107	310	360	18	31	18
Bruder I heterozygot	32	38	110	300	390	22	31	21
Bruder II heterozygot	34	40	100	220	300	24	33	23
Tochter n. d.	32	–	105	210	300	23	–	22
Proposita Fbg Marburg	>120	60	<5	<60	120	>160	160	>120
Sohn Fbg Marburg het.	32	38	89	110	220	27	37	30

*1Wasserbad/Hand

*2Wasserbad/Hand

Tabelle 2: Ergebnisse der Gerinnungsuntersuchungen

6.4 Gentechnische Untersuchung zur Charakterisierung des Defektes bei V. a. Vorliegen einer Hypo-/ Dysfibrinogenämie

Der zugrundeliegende Defekt wurde mit Hilfe der DNA-Sequenzanalyse von M. Meyer geklärt. Die Proposita ist homozygot und hat die Mutation A4713T im FGA-Gen. Aus dem Basentriplett AAA wurde ein Stop-Codon TAA, und so werden die Aminosäuren 461-610 der A α -Kette nicht mehr synthetisiert (461, Lys→Stop). Die Mutter, der Vater und die beiden Brüder der Patientin sind heterozygot für den Defekt. Consanguinität ist nicht bekannt. Die Schwester ist nicht betroffen (siehe Abbildung 15). Die Tochter der Proposita wurde nicht gentechnisch untersucht; es ist davon auszugehen, daß sie heterozygote Trägerin der Mutation ist. Der Defekt ist identisch mit dem Defekt bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg, der 1992 von Koopman charakterisiert wurde. Auch wegen der geografischen Nähe der Wohnorte der beiden Familien muß man von einer verwandtschaftlichen Beziehung ausgehen.

6.5 Bericht über die Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg, Krankheitsverlauf bis 2001

Die Familie wurde 1973 erstmals untersucht und 1977 erstmals in der Literatur erwähnt [Fuchs G et al, 1977]. Anamnestisch waren bei der damals 20jährigen Patientin lediglich eine geringe Blutungsneigung nach Traumata und eine Hämatomneigung bekannt. Im 19 Lebensjahr wurde die Patientin schwanger. Wegen einer Placenta praevia mußte die Schwangerschaft durch einen Kaiserschnitt beendet werden. Kurz nach der Operation kam es zu einer starken uterinen Blutung, so daß eine Hysterektomie nötig wurde, um die Blutung zu stillen. Während der Operation wurden insgesamt 2 Liter Blut transfundiert. Am 7. postoperativen Tag erlitt die Patientin eine Lungenembolie. Trotz der eingeleiteten Therapie mit oralen Antikoagulantien kam es während des stationären Aufenthaltes zu rezidivierenden Lungenembolien. Ursächlich war eine tiefe Beckenvenenthrombose, die fibrinolytisch behandelt wurde. Am 36. postoperativen Tag kam es zu einem zweiten, kurz nach der Entlassung zu einem dritten Verschluß der Beckenvenen mit erneuten Lungenembolien, und die Patientin mußte erneut stationär aufgenommen werden.

Die Patientin leidet seither unter starker Varikosis und rezidivierenden Ulcera cruris bei postthrombotischem Syndrom. Nach einer operativen Ligatur der Vv. perforantes links 1991 kam es zu einer Hautnekrose an der Unterschenkelinnenseite links, die narbig abheilte.

1997 entwickelte sich nach Entfernung einer Druckstelle am rechten kleinen Zeh ein über sechs Monate nicht heilendes Ulcus. Bis Januar 1998 folgten ein Druckgeschwür am 4. Zeh rechts und, nach einem Arbeitsunfall, zwei weitere Ulcera an der Innenseite des rechten Fußes (siehe Abb. 9/10). Die Wunden infizierten sich. Eine Arteriografie ergab einen partiellen

Verschuß der A. fibularis und der A. tibialis rechts und eine deutlich nachweisbare Kollateralenbildung, die mit einer Mangeldurchblutung einherging. Eine Capillaroskopie zeigte eine Mikroangiopathie mit Zerstörung des Endothels. Die Wunden heilten über einen Zeitraum von mehreren Wochen nach einem stationären Aufenthalt ab.



Abbildung 9/10 1998: Ulcus am rechten kleinen Zeh und Druckgeschwür 4. Zehe rechts. 2 Ulcera an der Innenseite des rechten Fußes [Roales-Welsch S et al, 1999]

Am 25.08.98 zog sich die Patientin eine Verbrühung des rechten Fußes zu. Sie hatte Schmerzen in beiden Beinen. Erst im September, nach Auftreten eines starken Rückenschmerzes und wegen einer Behinderung beim Gehen, stellte sich die Patientin beim Arzt vor. Es wurden angiografisch ein Verschuß der linken A. femoralis und der rechten A. iliaca externa festgestellt, in deren Folge insgesamt 4 Nekrosen im Bereich der rechten Großzehe und Kleinzehe auftraten. Die arteriellen Thrombosen wurden mittels Ballonkatheterdilatation behandelt. Es folgte eine intravenöse Heparintherapie, die später subcutan weitergeführt wurde. Außerdem erfolgten die tägliche Gabe von Aspirin und die regelmäßige Substitution von AT. Unter dieser Therapie kam es zu keinen weiteren Rezidiven der arteriellen Thrombosen. Im Mai 1999 entwickelte sich erneut ein Ulcus am linken Unterschenkel, das sich trotz intensiver Bemühungen vergrößerte und bis zum Juli 2001 nicht abheilte.

6.6 Familienanamnese der Mitglieder der Familie mit Hypo-/Dysfibrinogenämie Marburg

Bei einer Untersuchung der Angehörigen fand sich 1977 kein Hinweis auf eine Gerinnungsstörung. Der Vater war gesund, die Mutter war nach jahrelangem arteriellem Hypertonus an einem Apoplex verstorben. Auch die 7 Geschwister, ein Bruder und 6 Schwestern, zeigten keine Symptome, die auf eine Gerinnungsstörung hingedeutet hätten.

Eine Familienuntersuchung 1994 [Dissertation Appel D, 1994] ergab, daß bei einer heterozygoten Schwester nach der Geburt ihres ersten Kindes eine massive uterine Blutung aufgetreten war, so daß zwei Liter Blut transfundiert werden mußten. Eine andere heterozygote Schwester berichtete über vermehrtes Nachbluten nach Schnittverletzungen. Sowohl der

Vater als auch zwei heterozygote Schwestern und eine nichtbetroffene Schwester klagten über häufiges Nasenbluten. Eine heterozygote Schwester, der heterozygote Bruder und der heterozygote Sohn geben bis heute noch keine klinischen Symptome an. Alle Familienmitglieder leiden unter starker Varikosis.

6.7 Gerinnungsuntersuchungen beider Familienmitglieder mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg

Bei der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg wurden 1977 und 1992 ausführliche Untersuchungen durchgeführt [Fuchs G et al, 1977, Koopman J, 1992a]. Jetzt wurden die homozygote Proposita und der heterozygote Sohn erneut untersucht, um die Werte direkt mit den Ergebnissen der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen vergleichen zu können.

Bei der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg lag die Fibrinogen-Aktivität bei 60mg/dl und die Fibrinogen-Konzentration bei 120mg/dl. Beide Werte liegen unterhalb des Normbereiches. Die Thrombinzeit war auf >120 sec verlängert wie auch die Reptilase-Zeit. Die aPTT betrug ebenfalls >120 sec, der Quick-Wert lag bei <5%. Antithrombin und Plasminogen lagen im Normbereich.

Bei dem Sohn der Proposita betrug die Fibrinogen-Aktivität 110mg/dl und die Fibrinogen-Konzentration 220mg/dl. Die Thrombinzeit lag bei 27 sec, die Reptilase-Zeit bei 30 sec. Prothrombinzeit und Quick-Wert lagen im Normbereich, ebenso Antithrombin und Plasminogen.

Bei der Untersuchung von J. Koopman aus dem Jahr 1992 lag die Fibrinogen-Aktivität der Proposita bei 25mg/dl und die Fibrinogen-Konzentration bei 60mg/dl. Die Unterschiede zu den Ergebnissen der jetzigen Untersuchung der Proposita und ihrem Sohn mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg sind am ehesten durch unterschiedliche Bestimmungsmethoden zu erklären. Die Fibrinogenbestimmung ist eine Methode, die eine hohe Streuung bei wiederholten Bestimmungen aufweist. Bei beiden Bestimmungen liegt jedoch die Fibrinogen-Aktivität niedriger als die Fibrinogen-Konzentration und bei beiden Bestimmungen liegen Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration deutlich unterhalb des Normwertes.

6.8 Gentechnische Untersuchung zur Charakterisierung des Defektes bei der Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg

Im Jahre 1992 wurde der der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg zugrunde liegende Gendefekt mittels DNA-Sequenzanalyse durch J. Koopman geklärt [Koopman J et al, 1992a]. Die

Proposita ist homozygot für die Basensubstitution A→T, so daß aus dem Codon A α 461 AAA (Lys) das Codon TAA (Stop) wird. Daraus folgt die Kettenverkürzung mit Verlust des carboxy-terminalen Segmentes A α 461-610. Der Vater, drei Schwestern, ein Bruder und der Sohn sind heterozygot für die Mutation. Die Mutter wurde nicht untersucht, aber es ist davon auszugehen, daß sie heterozygot für den Defekt war (siehe Abb.14). Bei den heterozygoten Trägern liegt der Anteil des abnormalen Fibrinogens am Gesamtfibrinogen bei 10-20 %.

6.9 Weitere Untersuchungen zu den Funktionsausfällen bei Hypo-/Dysfibrinogenämie Marburg von Koopman, Sobel und Sugo

Koopman beschrieb 1992, daß die Fibrinopeptid A- und B-Freisetzung von Fibrinogen Marburg I durch Thrombin normal ist. Die Fibrin-Polymerisation ist deutlich verzögert. Durch die Polymerisationsstörung ist wiederum die t-PA katalysierte Aktivierung von Plasminogen vermindert.

Die Bindung von Fibrinogen Marburg I an Endothelzellen ist stark vermindert.

Durch das Fehlen der Aminosäuren 461 bis 610 der A α -Kette fehlt auch der Cystein-Rest an Position 472, der sonst eine intramolekulare Disulfid-Brücke mit dem Cystein-Rest an Position 442 ausbildet. Um den Redox-Status vom Cystein an Position 442 bei Fibrinogen Marburg I zu bestimmen, wurde die Anzahl freier Sulfhydryl-Gruppen bestimmt. Normales Fibrinogen und Fibrinogen Marburg I enthalten keine freien Sulfhydrylgruppen. Gereinigtes Fibrinogen und Plasma der Proposita enthalten Fibrinogen-Albumin-Komplexe, wahrscheinlich entstanden durch Disulfid-Brückenbildung zwischen der freien SH-Gruppe des Albumins und des unpaaren Cysteins an Position 442 der A α -Kette von Fibrinogen Marburg I [Koopman J et al, 1992a].

Eine Untersuchung von Sobel 1995 zeigte, daß die verkürzten α -Ketten bei der Vernetzung durch F XIIIa kein ausgedehntes α -Polymer Netzwerk bilden können. Dies ist wahrscheinlich durch das Fehlen der COOH-terminalen Lysinreste bedingt. Aber dies beeinflusst nicht die initialen Schritte des Fibrin-Stabilisierungsprozesses wie F. XIII-Bindung und die beginnende Vernetzung [Sobel et al, 1995].

Sugo beschrieb 1998, daß bei der Spaltung von Fibrinogen Marburg verschiedene $\alpha\mu\gamma$ -Heteromultimere entstehen. Ein Teil des schon gebundenen Albumins verbindet sich mit den γ -Ketten. Die Fibrinmonomere können sich nicht zu großen α -Aggregaten vernetzen und die laterale Anlagerung der Protofibrillen ist gestört. Durch F. XIII vernetztes Fibrin Marburg, das Albumin enthält, ist sehr resistent gegen Plasmin [Sugo T et al, 1998].

2000 konnte Sugo zeigen, daß Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg auch resistent gegen Leukozyten-Elastase ist [Sugo T, 2000]. Die veränderte α -Kette des Fibrinogen Marburg wird nicht durch Elastase gespalten (s. Abb. 11-13).

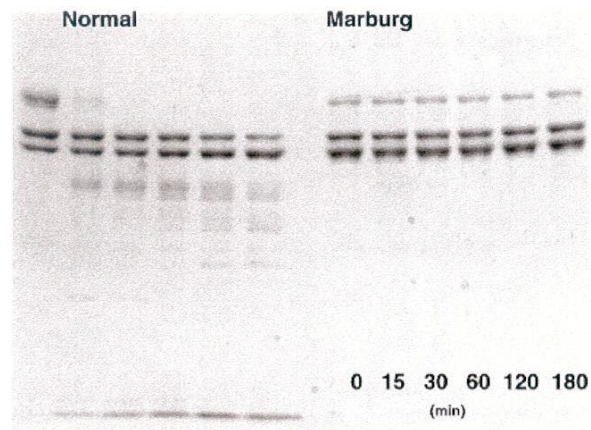


Abbildung 11: Fibrinogen-Spaltung durch Elastase (2 µg/mg Fibrinogen)

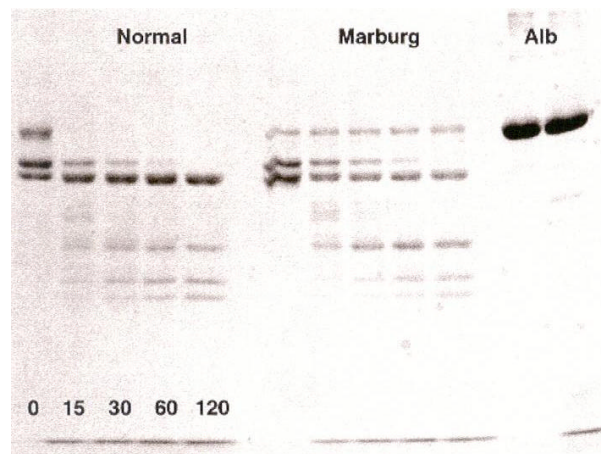


Abbildung 12: Fibrinogen-Spaltung durch Elastase (10 µg/mg Fibrinogen)

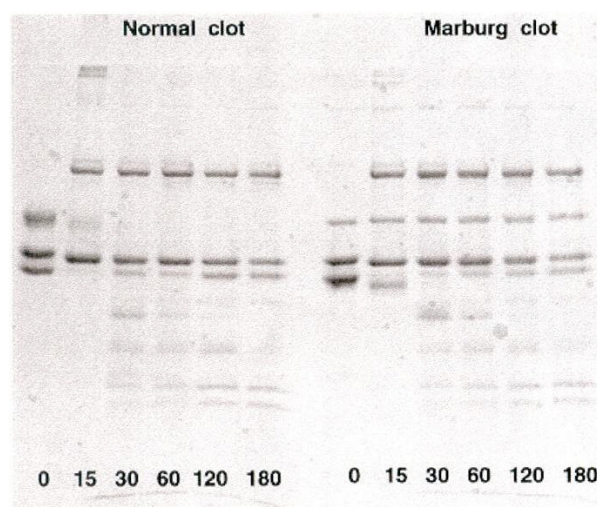


Abbildung 13: Lyse eines Fibringerinnsels durch Leukozyten-Elastase

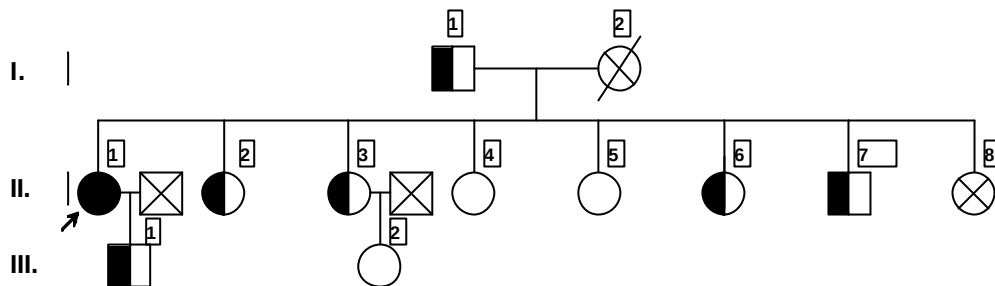


Abbildung 14: Stammbaum der Familie mit Dysfibrinogenämie Marburg I [Koopman, J. et al, 1992]

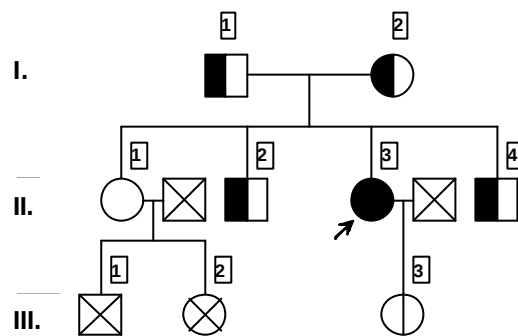
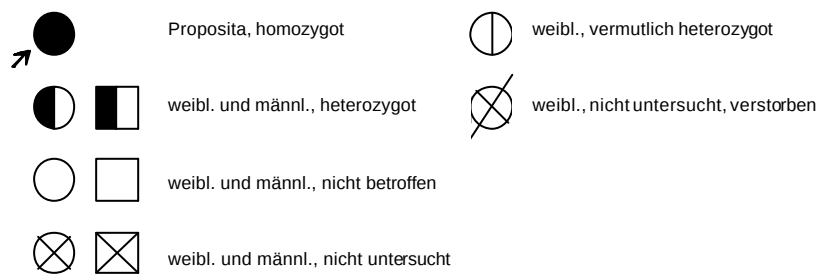


Abbildung 15: Stammbaum der Familie mit Dysfibrinogenämie Giessen



6.10 Vergleich von Hypo-/Dysfibrinogenämie Giessen mit Hypo-/Dysfibrinogenämie Marburg

Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen hat den gleichen Strukturdefekt und die gleiche Mutation wie die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg. Interessanterweise ist die Klinik bei den beiden Patientinnen völlig unterschiedlich. Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg hat neben ihrer Blutungsneigung eine ausgeprägte Thromboseneigung und bildet außerdem Hautnekrosen und Ulcera aus. Die Patientin aus Giessen leidet unter einer Blutungsneigung nach Traumata, bei Operationen und postpartal. Sie hatte noch nie eine Thrombose. Die Blutungsneigung kam jedoch kaum zum Tragen, da die Patientin sofort nach der Diagnosestellung bei allen sieben durchgeführten operativen Eingriffen eine Substitutionstherapie erhielt. Bei der Sectio caesarea 1996 verlor die Patientin 800ml Blut.

Nach dem Polytrauma wurde die Gießener Patientin mit Heparin behandelt, um das Thromboserisiko zu senken, bei allen anderen operativen Eingriffen erfolgte jedoch keine Heparinbehandlung mehr.

Die Laborparameter der homozygoten Träger beider Familien sind ähnlich, so daß sich hier keine Erklärung für die unterschiedlichen klinischen Symptome findet (vergl. Tabelle 2, S. 23). Bei den heterozygoten Trägern zeigen sich Unterschiede bei aPTT, Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration. Die aPTT ist beim heterozygoten Vater der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen stärker verlängert als bei allen anderen Heterozygoten. Die Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration sind beim heterozygoten Sohn der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg deutlicher vermindert, als bei den heterozygoten Angehörigen mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen.

6.10.1 Untersuchungen zu den Ursachen der unterschiedlichen klinischen Auswirkungen der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen im Vergleich zur Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg

Da die klinischen Auswirkungen des Defektes bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg und Giessen trotz identischem Strukturdefekt unterschiedlich sind, wurden ergänzende Untersuchungen veranlaßt. In Zusammenarbeit mit der Universitätsklinik in Ulm wurden im Januar 2002 elektronenmikroskopische Bilder angefertigt. Sie zeigen das Netzwerk von normalem Fibrin, von Fibrin Giessen und von Fibrin Marburg im Vergleich. Das Netzwerk, das sich in Gegenwart von Calcium-Ionen ausbildet, scheint bei Fibrin Giessen etwas dünnere und weniger verzweigte Fasern zu enthalten als das von Fibrin Marburg. Dies spricht für einen Unterschied zwischen diesen beiden Fibrinogenen, der aber noch nicht näher beschrieben werden kann.

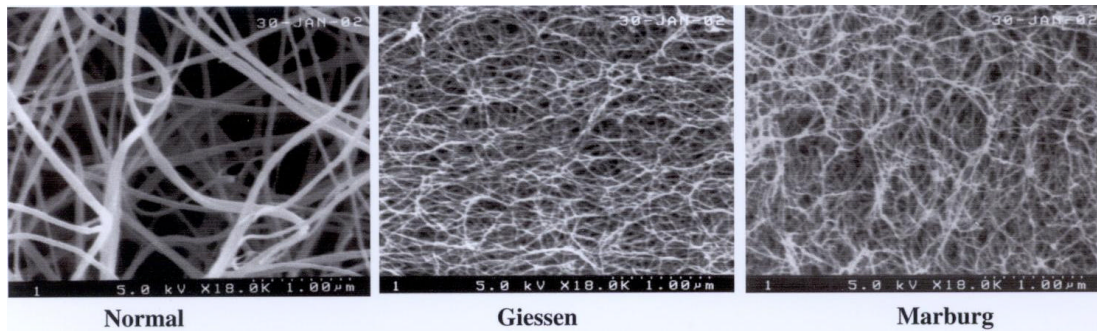


Abbildung 16: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchung. Vergleich zwischen normalem Fibrin, Fibrin Giessen und Fibrin Marburg. [Universitätsklinik Ulm 2002]

Eine weitere Untersuchung zum Unterschied zwischen den beiden Hypo-/ Dysfibrinogenämien wurde auf unsere Veranlassung von T. Sugo in Japan durchgeführt [Sugo T, 2002]. In einer SDS-PAGE-Untersuchung fand sich ein ähnliches SDS-Profil mit verkürzter α -Kette, aber das Albuminband war bei Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen schwächer ausgeprägt als bei Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg. In einer N-terminalen Sequenz-Analyse wurde der Albumin-Gehalt der beiden Proben bestimmt. Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen enthält nur 1/3 (0,11 mol Albumin/mol Fibrinogen) des gebundenen Albumins im Vergleich zu Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg. Dies könnte die fehlende Thromboseneigung der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen erklären, da gebundenes Albumin die Ursache für die Thromboseneigung ist (siehe 6.12).

Weiterhin wurde die Spaltung von Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen durch Elastase untersucht [Sugo T, 2002] und mit der Spaltung von Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg durch Elastase verglichen (siehe 6.9). Sowohl Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen als auch Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg werden langsamer durch Elastase gespalten als normales Fibrinogen. Bzgl. der Elastase Spaltung konnten keine Unterschiede zwischen Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg und Giessen festgestellt werden.

6.11 Funktionsunterschiede unterschiedlich verkürzter Aa-Ketten bei Patienten mit Hypo- und Afibrinogenämien

1977 wurde erstmals über die Familie mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg berichtet [Fuchs G et al, 1977]. Die Proposita hatte eine schwere uterine Blutung nach der Geburt ihres ersten Kindes und thromboembolische Komplikationen im Wochenbett. In zwei Dissertationen [Köther M, 1989, Appell D, 1994] wurde u. a. über den klinischen Verlauf der homozy-

goten Proposita berichtet. 1992 wurde der Strukturdefekt der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg $A\alpha$ 461 AAA (Lys)→TAA (Stop) charakterisiert [Koopman J et al, 1992a]. Weiter wurde beschrieben, daß bei der Fibrinogenvariante Marburg eine schwere Hypo-/ Dysfibrinogenämie besteht und eine verkürzte $A\alpha$ -Kette ($A\alpha$ 461-610) nachweisbar ist.

In der Zeit von 1994 bis 2001 wurden 6 weitere Familien mit einer verkürzten $A\alpha$ -Kette beschrieben. Die verschiedenen Gen-und Proteindefekte, funktionellen Ausfälle und klinischen Besonderheiten sind in den Tabellen 3-7 aus der Literatur zusammengestellt. Bei 6 Familien liegt ein anderer genetischer Defekt vor, und daraus resultieren die verschieden langen Rest- $A\alpha$ -Ketten der Fibrinogen-Moleküle.

6.11.1 Die Struktur der unterschiedlich verkürzten Aa-Ketten der Fibrinogenmoleküle

Bei den 4 heterozygoten Trägern der Fibrinogen-Variante Lincoln beträgt das Molekulargewicht der verkürzten $A\alpha$ -Kette ($A\alpha$ 1-479) 60 kD, d. h. 7 kD weniger als das der normalen α -Kette (67 kD). Die Fibrinogen-Aktivität beträgt 190mg/dl. Es fehlen 21% der normalen Länge der $A\alpha$ -Kette weil 131 AS, nämlich die von 480-610, fehlen. Der Anteil der veränderten $A\alpha$ -Kette an der gesamten $A\alpha$ -Kettenmenge beträgt lediglich 25-30%, obwohl bei heterozygoter Ausprägung ein Anteil von 50% zu erwarten gewesen wäre [Ridgway HJ et al, 1996].

Bei der homozygoten Proposita mit Fibrinogen Marburg I beträgt das Molekulargewicht der $A\alpha$ -Kette 52 kD, d. h. 15 kD weniger als normal. Der verkürzten $A\alpha$ -Kette (1-460) fehlen 25% der normalen Länge. Die Fibrinogen-Aktivität des Anteils der defekten $A\alpha$ -Kette beträgt 20mg/dl [Koopman J et al, 1992a].

Die verkürzte $A\alpha$ -Kette der homozygoten Patientin mit Fibrinogen Milano III ($A\alpha$ 1-453) hat ein Molekulargewicht von 50 kD, 17 kD weniger als normal. Sie ist um 26% verkürzt. Die Fibrinogen-Aktivität des Anteils der defekten $A\alpha$ -Kette liegt bei 20mg/dl [Furlan M et al, 1994].

Die $A\alpha$ -Kette des homozygoten Patienten mit Fibrinogen Nieuwegein entspricht in Kettenlänge und Molekulargewicht der $A\alpha$ -Kette von Fibrinogen Milano III [Collen A et al, 2001]. Die Fibrinogen-Aktivität wurde in der Originalarbeit leider nicht angegeben.

Die homozygote Patientin mit Fibrinogen Otago hat die kürzeste $A\alpha$ -Kette eines Fibrinogen-Moleküls, die nötig ist, um Fibrinogen ins Plasma zu sezernieren. Die Fibrinogen-Aktivität beträgt 6mg/dl. Das Molekulargewicht der $A\alpha$ -Kette beträgt 30 kD, 37 kD niedriger als normal. Die $A\alpha$ -Kette ist um 56% verkürzt [Ridgway HJ et al, 1997].

Bei der Afibrinogenämie einer homozygoten norwegischen Patientin beträgt die virtuelle Kettenlänge 148 Aminosäuren. Es fehlen 76% der A α -Kette. Es lässt sich keine Fibrinogenaktivität im Plasma nachweisen. In Thrombozyten ließen sich Spuren von γ -Ketten des Fibrinogen-Moleküls nachweisen [Fellowes AP et al, 2000].

Bei den 4 homozygoten Patienten der schweizer Familie mit Afibrinogenämie beträgt die virtuelle Kettenlänge nur 18 Aminosäuren. Es fehlen 97% der A α -Kette. Auch hier lässt sich keine Fibrinogen-Aktivität im Plasma nachweisen [Neerman-Arbez M et al, 1999].

(Siehe Tabelle 3).

6.11.2 Funktionelle Defekte bei 6 Fibrinogen-Varianten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten

Die Tabelle 4 enthält typische Störungen der Funktion der verschieden langen A α -Ketten der Fibrinogen-Varianten.

All diesen Fibrinogen-Varianten gemeinsam ist eine mehr oder weniger ausgeprägte Störung der Fibrinpolymerisation. Weiterhin findet sich eine unterschiedlich stark ausgeprägte Störung der Fibrinstabilisation, vorwiegend der α -Kettenvernetzung durch F. XIII.

Entsprechend der α -Kettenlänge fehlen Plättchenbindungsstellen an den α -Ketten, und auch die Bindung an Endothelzellen ist beeinträchtigt oder fehlt ganz.

Wenn eine der beiden intramolekularen Cysteinbindungsstellen fehlt, z. B. A α Cys 472 bei Fibrinogen Marburg, Fibrinogen Milano III oder Fibrinogen Nieuwegein, besteht die Möglichkeit, Albumin an A α Cys 442 zu binden, welches die Fibrinpolymerisation und die Fibrinolyse stört. Dies könnte die Neigung zu Thrombosen bei den Hypo-/ Dysfibrinogenämien Marburg und Milano III erklären. Bei der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Nieuwegein ist allerdings keine Thromboseneigung beschrieben.

Bei Fibrinogen Otago fehlen beide Cysteine, sowohl bei A α 442 als auch bei A α 472. Es wird nur über eine Blutungsneigung, aber nicht über Thromboseneigung berichtet. Die Neigung zu Fehlgeburten wird zur Zeit noch auf uterine Blutungskomplikationen zurückgeführt.

Bei kongenitalen Afibrinogenämien besteht eine lebenslange Blutungsneigung. Thromboembolische Komplikationen treten gelegentlich nach Fibrinogensubstitution auf, sonst besteht keine Thromboseneigung.

6.11.3 Klinische Symptome wie Blutungsneigung und Thromboseneigung bei Patienten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten

In Tabelle 5 findet sich eine Zusammenstellung der klinischen Komplikationen bei Patienten mit verkürzter A α -Kette.

Wie bei der kongenitalen Afibrinogenämie können alle Fibrinogen-Varianten mit verkürzter A α -Kette eine Neigung zu Blutungen aufweisen, insbesondere wenn sekundäre Risikofaktoren hinzukommen. Bei zwei der beschriebenen Dysfibrinogene mit A α -Kettenverkürzungen, Fibrinogen Marburg und Fibrinogen Milano III, wird Thromboseneigung angegeben.

Die Blutungsneigung bei den heterozygoten Trägerinnen mit Fibrinogen Lincoln äußerte sich in Menorrhagien und postpartalen Blutungen.

Bei der homozygoten Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg sind eine uterine Blutung nach Sectio caesarea, arterielle und venöse Thrombosen, Lungenembolien und Hautnekrosen beschrieben (vergl. auch 6.5).

Die homozygote Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Milano III litt unter hämolytischer Anämie und thromboembolischen Ereignissen. Bei dem homozygoten Patienten mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Nieuwegein ist keine Blutungs- oder Thromboseneigung beschrieben.

Bei der homozygoten Proposita mit Fibrinogen Otago kam es zu mehreren Fehlgeburten und einer postoperativen Blutung.

Die homozygote norwegische Patientin mit Afibrinogenämie litt gleich nach ihrer Geburt unter Blutungskomplikationen. Weiterhin sind Hämatomneigung, Einblutungen in Gelenke und gastrointestinale Blutungen beschrieben.

Die homozygoten Patienten mit Afibrinogenämie aus der Schweiz litten ausschließlich nach Traumata unter Blutungskomplikationen. Perioperativ wurden die Patienten erfolgreich mit Fibrinogen-Konzentraten behandelt.

6.11.4 Gen-Defekte der Fibrinogen-Varianten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten

Es handelt sich um unterschiedliche Gen-Defekte im Fibrinogen A α -Ketten-Gen (FGA), denen aber allen gemeinsam ist, daß es zur Entstehung eines Stop-Codons kommt, welches zum vorzeitigen Ende der Translation der A α -Kette führt. In den Tabellen 3 und 6 werden die Gen-Defekte ausführlich beschrieben.

6.11.5 Fibrinogenaktivität und Fibrinogenkonzentration, Ergebnisse der Thrombin- und Reptilasezeitbestimmung bei Patienten mit unterschiedlich verkürzten A α -Ketten

Die Laborwerte im einzelnen finden sich in Tabelle 7.

Wie bei fast allen Dysfibrinogenämien sind die Thrombin- und Reptilasezeit bei den homozygoten Anlageträgern stark verlängert. Bei den heterozygoten Trägern sind sie oft nur gering verlängert oder liegen im oberen Normbereich.

Die Fibrinogen-Aktivität und Fibrinogen-Konzentration bei den homozygoten Patienten mit Hypo-/ Dysfibrinogenämien sind niedriger als normal, wobei die Fibrinogen-Konzentration relativ höher liegt. Bei den Heterozygoten liegen beide Parameter im unteren Normbereich, was durch die noch ausreichende halbe Menge normalen Fibrinogens bedingt ist. Bei Heterozygoten der Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg beträgt der Anteil der Dysform 20-30% des gesamten Fibrinogens.

Leider sind bei den Dysfibrinogenämien Lincoln und Otago die Fibrinogen-Konzentrationen nicht in der Arbeit dokumentiert, so daß diese Werte in der Tabelle 6 fehlen. Weiterhin fehlt die Angabe der Fibrinogen-Aktivität für Fibrinogen Nieuwegein.

Bei den heterozygoten Trägern mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Lincoln liegt die Fibrinogen-Aktivität zwischen 130 und 190mg/dl. Wenn man davon ausgeht, daß ~150mg/dl die Hälfte der normalen Fibrinogenmenge ausmacht, würde die anteilig verminderte Dysfibrinogen-Aktivität bei ca. 40mg/dl liegen ($150+40=190\text{mg/dl}$). Genauere Angaben über die prozentuale Verteilung des normalen Fibrinogens und des Dyfibrinogens würde voraussetzen, daß man das Dysfibrinogen vom normalen Fibrinogen isoliert und beide Anteile getrennt auf Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration bestimmt.

Bei der homozygoten Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg beträgt die 1992 gemessene Fibrinogen-Aktivität 20mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration 60mg/dl.

Bei der homozygoten Patientin mit Dysfibrinogenämie Milano III liegt die Fibrinogen-Aktivität bei 20mg/dl und die Fibrinogen-Konzentration bei 260mg/dl. Da die Fibrinogen-Konzentration überraschend hoch liegt, kann man hier eigentlich nicht von einer Hypo-/ Dysfibrinogenämie ausgehen, sondern es würde sich um eine reine Dysfibrinogenämie handeln. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, wie diese Dysfibrinogenämie eingeordnet werden wird. Bei der Dysfibrinogenämie Nieuwegein hingegen liegt die Fibrinogen-Konzentration etwas niedriger, bei 170mg/dl. Leider fehlt die Angabe über die Fibrinogen-Aktivität.

Bei der homozygoten Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Otago beträgt die Fibrinogen-Aktivität 6-10mg/dl. Es fehlt die Angabe über die immunologische Konzentration. Dies ist die kürzeste bisher bekannte $A\alpha$ -Kette, bei der noch Fibrinogen-Aktivität nachgewiesen werden kann. Die Fibrinogen-Aktivität entspricht der Aktivität, die z. B. Patienten mit schwerer Hypofibrinogenämie haben. Da sehr viele schwere Hypofibrinogenämien noch nicht gentechnisch charakterisiert sind, bleibt abzuwarten, ob es sich, wie früher angenommen, um Patienten mit besonderen Formen einer Fibrinogen-Variante handelt, oder aber um Patienten mit sogenannten Hypo-/ Dysfibrinogenämien (vergl. 7.4). Hier kommen, unter anderem, sowohl $A\alpha$ -Kettenverkürzungen wie auch $B\beta$ - oder γ -Kettenverkürzungen als Ursache für eine verminderte Translation des Fibrinogens in Frage.

Bei den homozygoten Patienten mit Afibrinogenämien ist keine Fibrinogen-Aktivität mehr nachweisbar. Bei der Proposita aus Norwegen fanden sich bei immunologischen Untersuchungen in Thrombozyten γ -Ketten des Fibrinogens, bei den Patienten aus der Schweiz war weder funktionell noch immunologisch Fibrinogen nachweisbar.

6.11.6 Analytische Betrachtung der Tabellen

Ziel dieser Darstellung war es, weitere in der Literatur beschriebene Familien mit unterschiedlich verkürzten α -Ketten und Gen-Defekten, die zu unterschiedlich reduzierter Fibrinogen-Aktivität und Fibrinogen-Konzentration führen, gegenüberzustellen. Unter Berücksichtigung von Struktur und Funktion der verkürzten $A\alpha$ -Kette sollten klinische Symptome wie Blutungsneigung und Thromboseneigung in Beziehung zu der zunehmenden Verkürzung der $A\alpha$ -Kette gesetzt werden.

Bei den sieben Familien mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie bzw. Afibrinogenämie konnten 6 unterschiedliche Gen-Defekte, 6 unterschiedlich verkürzte $A\alpha$ -Ketten und 6 unterschiedliche Molekulargewichte der $A\alpha$ -Kette, wie in Tabelle 3 dargestellt, nachgewiesen werden.

Die Fibrinogen-Varianten sind in den Tabellen der abnehmenden Restlänge der $A\alpha$ -Kette nach, von oben nach unten, geordnet. Wie die Tabelle 3 zeigt, haben alle 6 dargestellten Fibrinogenvarianten unterschiedlich verkürzte α -Ketten. Bei Fibrinogen Lincoln fehlen 131, bei Fibrinogen Marburg 150, bei Fibrinogen Milano III und Fibrinogen Nieuwegein 156 und bei Fibrinogen Otago 338 Aminosäuren. Bei den Patienten mit Afibrinogenämie fehlen 461 und 590 Aminosäuren im Molekül. Dies entspricht 21, 25, 26, 56, 76 und 97% der α -Kette. Entsprechend sind die Molekulargewichte im Vergleich zu dem von Fibrinogen mit normaler Kettenlänge (67 kD) geringer, nämlich 60 kD, 52 kD, 50 kD, 30 kD oder 11 bzw. 17kD. Wie in Tabelle 3 zu ersehen, verringert sich auch das Molekulargewicht des Gesamtfibrinogens bei Fibrinogenen mit verkürzter α -Kette. In der Strukturformel wird die Verkürzung der α -Kette

durch Zahlenangabe der vorhandenen Aminosäuren im Molekül angegeben wie z. B. α 1-479 bei der Variante Lincoln.

Die Fibrinogen-Aktivität nimmt mit einer Ausnahme (Fibrinogen Milano III) entsprechend der zunehmenden Verkürzung der α -Kette ab. Wird eine bestimmte Länge der α -Kette unterschritten, wird kein Fibrinogen mehr sezerniert, so daß laborchemisch eine Afibrinogenämie resultiert. Bei diesen Formen der Afibrinogenämie handelt es sich daher genetisch um Dysfibrinogenämien oder um schwere Hypo-/ Dysfibrinogenämien und laborchemisch um sogenannte Afibrinogenämien.

Die Funktionsausfälle der beschriebenen Dysfibrinogene ergeben sich überwiegend aus der Verkürzung der α -Kette. Somit fehlen wichtige Strukturen der Fibrinpolymerisation, Fibrin-stabilisation, Plättchen-, Endothelzellbindung (siehe Tabelle 4, vergleiche auch 7.3.1). Diese Funktionsausfälle führen zu Blutungsneigung. Bei 2 Defekten mit fehlender zweiter Cystein-bindungsstelle und daraus resultierender Albuminbindung wird eine Thromboseneigung beschrieben (Fibrinogen Marburg und Milano III).

Meist kommt es bei Dysfibrinogenämien nur dann zu Komplikationen, wenn sekundäre Risikofaktoren wie z. B. Geburt, Wochenbett oder Traumata hinzukommen (siehe Tabelle 5).

Die Gen-Defekte werden in Tabelle 6 beschrieben. Die 3 Gene für die Synthese der α -, β - und γ -Kette des Fibrinogens befinden sich in einer Region von 50 kb auf dem Chromosom 4q28-q31. Den Gen-Defekten der beschriebenen Dysfibrinogene ist gemeinsam, daß es zur Entstehung eines Stop-Codons kommt, das dann zum Abbruch der Translation der α -Kette führt.

Typischerweise sind Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration bei homozygoten Patienten mit Hypo-/ Dysfibrinogenämien niedriger als normal. Die Fibrinogen-Konzentration liegt relativ höher als die Fibrinogen-Aktivität. Bei heterozygoten Trägern liegen Fibrinogen-Konzentration und -Aktivität im unteren Normbereich, da noch ausreichend normales Fibrinogen sezerniert wird (siehe Tabelle 7).

Fibrinogen Varianten	Gen-Defekt	a) Verkürzung der α -Kette b) Fehlende AS c) Verkürzung in %	a) kD Fibrinogen=n b) kD α -Kette=n c) reduzierte Fibrinogen-Aktivität (ACT)	FpA α 1-16 FpB β 1-14
1. Lincoln [Ridgway HJ et al 1996] (A α 1-479 B β γ)1 (A α 1-610 B β γ)1 a) Keine b) Drei	13-Basenpaar-Deletion im α -Ketten-Gen frame shift mutation→bei Ala 475, es werden 4 neue As translatiert, Ala 479 Stop-Codon	a) A α 480-610 b) 131 As c) 21% der α -Kette	a) $\approx$ 315 kD Fibrinogen b) $\approx$ 60 kD α -Kette c) 190mg% ACT	n n
2. Marburg [Koopman J et al 1992a] (A α 1-460 B β γ)2 a) Eine b) Fünf	Punktmutation A α 460 AAA (Iys)→TAA Stop-Codon	a) A α 461-610 b) 150 As c) 25% der α -Kette	a) $\approx$ 300 kD Fibrinogen b) $\approx$ 52 kD α -Kette c) 20mg% ACT	n n
3.1 Milano III (*) [Furlan M et al 1994] (A α 1-453 B β γ)2 a) Eine b) Drei	Insertion von Thymidin an Position 4133 (frame shift mutation), kodiert 3 neue As, führt zu TGA Stop-Codon A α 454	a) A α 454-610 b) 150 As c) 26% der α -Kette	a) $\approx$ 90 kD Fibrinogen b) $\approx$ 50 kD α -Kette c) 20mg% ACT	n n
3.2 Nieuwegein (*) [Collen A et al 2001] (A α 1-453 B β γ)2 a) Einer	Insertion von Cytosin im Triplet, das für A α 453 (Prolin) kodiert, führt zu einem Stop-Codon TGA an Position 454	a) A α 454-610 b) 150 As c) 26% der α -Kette	a) $\approx$ 90 kD Fibrinogen b) $\approx$ 50 kD α -Kette c) 20mg% ACT	n n
4. Otago [Ridgway HJ et al 1997] (A α 1-271 B β γ)2 a) Eine b) Eine	Einfügung von Thymidin an Position 4133 (frame shift mutation) kodiert 3 neue As und endet mit Stop-Codon TAG A α 272	a) A α 272-610 b) 338 As c) 56% der α -Kette	a) $\approx$ 70 kD Fibrinogen b) $\approx$ 30 kD α -Kette c) 6mg% ACT	n n
Afibrinogenämie (*) [Fellowes AP et al 2000] (A α 1-148 B β γ)2 a) Eine b) Sieben	C→T Transversion an Position 557 führt zu Stop-Codon TGA A α 149	a) A α 149-610 b) 461 As c) 76% der α -Kette	a) b) c) keine ACT	Ø Ø
Afibrinogenämie [Neerman-Arbez et al 1999] (A α 1-18 B β γ)2 a) Vier b) Fünf	Deletion von 11 kb der DNA Stop-Codon	a) A α 18-610 b) 590 As c) 97% der α -Kette	a) $\approx$ 11 kD Fibrinogen b) $\approx$ 17 kD α -Kette c) keine ACT, <1mg% Fibrinogen	Ø Ø

Tabelle 3: Sieben Fibrinogen-Varianten mit verkürzten A α -Ketten und verschiedenen Fibrinogen A α -Ketten-Gendefekten.

Diese Tabellen wurden in Zusammenarbeit mit K.Rein erstellt. Die mit (*) versehenen Fälle wurden von A. Nielsen bearbeitet.

Fibrinogen Varianten	Beeinträchtigung von Fibrin-(+) Monomer(++) Polymerisation	Verzögerte Thrombus-Bildung	Beeinträchtigte Bindung an Thrombozyten A α 95-97, 572-579	Beeinträchtigte Bindung an Endothelzellen	Beeinträchtigte FXIII Vernetzung A α 208-610
1. Lincoln [Ridgway HJ et al 1996] (A α 1-479 B β γ)1 (A α 1-610 B β γ)1 a) Keine b) Drei	+ ++ α C-Domäne keine Bindung	Verzögerte Fibrinogen-Bindung an Endothelzellen durch Integrin α v β 3-Rezeptor.	- +	+	+
2. Marburg [Koopman J et al 1992a] (A α 1-460 B β γ)2 a) Eine b) Fünf	+ ++ α C-Domäne keine Bindung	Albuminbindung an Cystein A α 442	- +	+	+
3.1 Milano III (*) [Furlan M et al 1994] (A α 1-453 B β γ)2 a) Eine b) Drei	+ ++ α C-Domäne keine Bindung	Albuminbindung an Cystein A α 442	- +	+	+
3.2 Nieuwegein (*) [Collen A et al 2001]	+ ++ α C-Domäne keine Bindung	Albuminbindung an Cystein A α 442	- +	+	-
4. Otago [Ridgway HJ et al 1997] (A α 1-271 B β γ)2 a) Eine b) Eine	+ ++ α C-Domäne keine Bindung	Beide Cysteine A α 442+472 fehlen	- +	+	+
Afibrinogenämie (*) [Fellowes AP et al 2000] (A α 1-148 B β γ)2 a) Eine b) Sieben	Alle funktionellen Eigenschaften fehlen	Es entsteht kein Thrombus	Keine Bindung an Thrombozyten	fehlt	fehlt
Afibrinogenämie [Neerman-Arbez M et al 1999] (A α 1-18 B β γ)2 a) Vier b) Fünf	Alle funktionellen Eigenschaften fehlen	Es entsteht kein Thrombus	Keine Bindung an Thrombozyten	fehlt	fehlt

Tabelle 4: Funktionelle Defekte bei sieben Fibrinogen-Varianten mit verkürzten A α -Ketten.

Fibrinogen Varianten a) Anzahl von Homozygoten b) Anzahl von Heterozygoten	Hämorrhagische Diathese und Thrombophilie bei sieben Familien mit verkürzten A α -Ketten
1. Lincoln [Ridgway HJ et al 1996] (A α 1-479 B β γ)1 (A α 1-610 B β γ)1 a) Keine b) Drei	Die heterozygote Proposita bemerkte eine Hämatomneigung post partum. Die Dauer der Blutungen nach Geburten betrug 6 Wochen bis drei Monate. Sie litt unter Menorrhagien, nachdem sie die oralen Kontrazeptiva drei Jahre vor ihrer ersten Schwangerschaft abgesetzt hatte. Eine Brust-Operation verlief ohne Blutungskomplikationen. Bei ihrer Mutter wurde im Alter von 35 Jahren eine Hysterektomie wegen Menorrhagien durchgeführt.
2. Marburg [Koopman J et al 1992a] (A α 1-460 B β γ)2 a) Eine b) Fünf	Die homozygote Frau ist 1954 geboren. 1973 wurde sie schwanger; nach der Entbindung durch Sectio caesarea kam es zu einer uterinen Blutung, die eine Hysterektomie nötig machte. Im Wochenbett litt sie unter drei Lungenembolien, später unter rezidivierenden Ulcera cruris bis 1991. In 1991 wurden die Perforans-Venen unterbunden. Ab 1997 kam es wiederholt zu Hautnekrosen im Bereich der Füße nach kleinen Traumata. 1998 wurden arterielle Thrombosen der linken Art. femoralis und der rechten Art. iliaca mittels Ballonkatheter entfernt. 1999 entwickelte sich ein Ulcus am linken Unterschenkel, das bis Juli 2001 nicht abgeheilt war.
3.1 Milano III (*) [Furlan M et al 1994] (A α 1-453 B β γ)2 a) Eine b) Drei	Das junge homozygote Mädchen ist 1973 geboren. 1982 litt sie unter einer hämolytischen Autoimmun-Anämie und rezidivierenden Thrombosen der Beine. 1985 entwickelte sie einen systemischen Lupus erythematodes und litt unter schweren Episoden der hämolytischen Anämie. Seit dem 13. Lebensjahr kam es immer wieder zu Thrombosen und zu Lungenembolien.
3.2 Nieuwegein (*) [Collen A et al 2001] (A α 1-453 B β γ)2 a) Einer	Bei dem 35jährigen Mann fiel eine verlängerte aPTT auf, die vor einer Biopsie routinemäßig bestimmt wurde. Er litt nie unter Blutungen oder thromboembolischen Komplikationen.
4. Otago [Ridgway HJ et al 1997] (A α 1-271 B β γ)2 a) Eine b) Eine	Die 28jährige Patientin indischer Abstammung hatte vier Fehlgeburten in der 6. Bis 8. Schwangerschaftswoche. Ein drohender Abort in der 7. Bis 10. Schwangerschaftswoche der fünften Schwangerschaft wurde mit Kryopräzipitat behandelt. Während der Entbindung und postpartal wurde der Fibrinogen-Spiegel auf 1g/l angehoben. Später waren unter regelmäßiger Substitution mit Fibrinogen normale Schwangerschaften und Entbindungen möglich. Nach Schnittverletzungen kam es zu nässenden Wunden. Nach der Operation eines Duodenalgeschwürs folgte eine Nachblutung in die Drainage.
Afibrinogenämie (*) [Fellowes AP et al 2000] (A α 1-148 B β γ)2 a) Eine b) Sieben	Die Diagnose der Afibrinogenämie wurde bei der 29jährigen norwegischen Patientin nach der Geburt gestellt, da eine Austauschtransfusion wegen Blutungskomplikationen nötig wurde. Sie litt unter Hämatomneigung. Gelenkeblutungen ins Sprunggelenk führten zu einer Synovektomie, aber andere Gelenke waren nicht betroffen. Drei Gastrointestinalblutungen waren lebensbedrohlich. Die Dauertherapie erfolgt mit Kryopräzipitaten. Sie führt ein aktives Leben und trägt Kryopräzipitat bei sich seit dem Alter von 12, über das sie selbst verfügt. Meist sind 2 Injektionen im Monat nötig, die aus 430 IU VWF, 11 IU F VIII und 200 bis 300mg Fibrinogen bestehen.
Afibrinogenämie [Neerman-Arbez M et al 1999] (A α 1-18 B β γ)2 a) Vier b) Fünf	Alle vier Patienten litten nur nach Traumata o.ä. unter Blutungskomplikationen. Vor operativen Eingriffen wurden die Patienten erfolgreich mit Fibrinogenkonzentraten behandelt.

Tabelle 5: Klinische Symptome und Komplikationen bei Patienten mit Dysfibrinogenämie und unterschiedlich verkürzten A α -Ketten.

Fibrinogen Varianten	Gen-Defekte bei sieben Fibrinogen-Varianten mit verkürzten A α -Ketten
a) Anzahl von Homozygoten b) Anzahl von Heterozygoten	
1. Lincoln [Ridgway HJ et al 1996] (A α 1-479 B β γ)1 (A α 1-610 B β γ)1 a) Keine b) Drei	Deletion von 13 Basenpaaren im Exon 5 des α -Ketten-Gens (nt 4758-4770), die zu einem frame-shift bei Ala 475 führt. Es resultiert die Translation von vier neuen As (His 476, Cys 477, Leu 478, Ala 479 stop) bevor die Kette bei A α 479 mit einem neuen Stop-Codon endet. Der Mechanismus, der zu der Deletion geführt hat, ist unklar. Die 13-Basenpaar-Deletion endet an beiden Seiten mit einem bp(AGGCA) direct repeat. Die α -Ketten Frequenz ist normal bis zu A α 475.
2. Marburg [Koopman J et al 1992a] (A α 1-460 B β γ)2 a) Eine b) Fünf	Durch die Substitution einer einzelnen Base ändert sich das A α Lys 461 (AAA Codon) in ein TAA Stopcodon. Die Verkürzung der A α -Kette bedingt einen Verlust von A α Cys 472, und das Cystein A α 442 bildet Disulfid-Brücken zu Albumin.
3.1 Milano III (*) [Furlan M et al 1994] (A α 1-453 B β γ)2 a) Eine b) Drei	Die Einfügung von Thymidin im Exon V nach dem Triplet Codon (ATT), das die Aminosäure Ile A α 451 verschlüsselt, beeinträchtigt den reading frame, so daß 2 Aminosäuren translatiert werden, bevor die Kette als TGA stop codon endet und ein vorzeitiges Ende der Proteinsynthese verursacht wird. Das Triplet ATT kodiert A α 451 Ile und zwei neue As [Trp 452 (TGG), Ser 453 (TCC) plus stop 454(TGA)]. Das A α -Cystein an Position 442 bildet Disulfid-Brücken zu Albumin aus. Cystein A α 472 fehlt.
3.2 Nieuwegein (*) [Collen A et al 2001] (A α 1-453 B β γ)2 a) Einer	Die Einfügung von Cytosin im Triplet, das für A α 453 (Prolin) kodiert, ändert die Sequenz von CCT zu CCC. Diese Insertion verändert den „reading frame“. Aus dem Codon GAT für A α 454 (Asparaginase) wird ein Stop-Codon TGA. Dies führt zu einer verkürzten A α -Kette. Es fehlen die As 454 bis 610. Das A α -Cystein an Position 442 bildet Disulfid-Brücken zu Albumin aus. Cystein A α 472 fehlt.
4. Otago [Ridgway HJ et al 1997] (A α 1-271 B β γ)2 a) Eine b) Eine	Einfügung eines einzelnen Cytosin an Position 4133 der codierenden Sequenzen. Durch diesen Defekt werden drei neue As translatiert (Gln 268, Glu 269, Pro 270), bevor die Kette mit einem neuen Stop-Codon (TAG) endet. Die Mutation von Fibrinogen Otago definiert die Mindestlänge der α -Kette, die für die normale Sekretion von Fibrinogen nötig ist. Die verbleibende Länge der α -Kette (A α 271-461) ist bestimmend für das Aufrechterhalten einer normalen Fibrinogen-Konzentration.
Afibrinogenämie (*) [Fellowes AP et al 2000] (A α 1-148 B β γ)2 a) Eine b) Sieben	Es zeigte sich eine homozygote C $\rightarrow$ T Transversion, 557 Nukleotide von der Transkriptions-Initiations-Stelle entfernt. Dieser Austausch eines Nukleotids bedingt die Nonsense-Mutation A α 149 Arg (CGA) $\rightarrow$ stop (TGA). Die Verkürzung der α -Kette scheint zu einer gestörten Verknüpfung oder gestörten Sekretion von Fibrinogen zu führen, wahrscheinlich durch Fehlen des C-terminalen Disulfid-Ringes, der nötig ist für die Formation eines stabilen 3-Ketten-Halbmoleküls.
Afibrinogenämie [Neerman-Arbez M et al 1999] (A α 1-18 B β γ)2 a) Vier b) Fünf	Die Deletion von 11 kb der DNA bedingte den Verlust eines Großteils des FGA-Gens (Fibrinogen α -Kette). Dies führte zum Fehlen von funktionellem Fibrinogen. Die stark verkürzte α -Kette enthält nur 18 Aminosäuren, die im Exon 1 kodiert sind.

Tabelle 6: Gen-Defekte von sieben Patienten mit Dysfibrinogenämie und verkürzten A α -Ketten.

Fibrinogen Varianten a) Anzahl von Homozygoten b) Anzahl von Heterozygoten	Homo- und heterozygote Familienmitglieder	Thrombinzeit n=19-24sec.	Reptilase-Zeit n bis 21 sec.	Fibrinogen mg/dl Akt	Fibrinogen mg/dl Konz
1. Lincoln [Ridgway HJ et al 1996] (A α 1-479 B β γ)1 (A α 1-610 B β γ)1 a) Keine b) Vier	I-1 Mutter ○ II-2 Proposita ○ III-1 Sohn 1 □ III-2 Sohn 2 □	41 38 44 44	37 52 34 33	180 190 140 130	
2. Marburg [Koopman J et al 1992a] (A α 1-460 B β γ)2 a) Eine b) Fünf	I-2 Vater □ II-1 Proposita ● II-2 Schwester 1 ○ II-3 Schwester 2 ○ II-6 Schwester 3 ○ II-7 Bruder □ III-2 Sohn □	41 >180 31 40 35 33 38	27 >180 17 18 20 19 23	180 <20	60 165 195 170 190
3.1 Milano III (*) [Furlan M et al 1994] (A α 1-453 B β γ)2 a) Eine b) Drei	I-1 Mutter ○ I-2 Vater □ II-1 Proposita ● II-2 Bruder □	23 19 >120 25	29 28 >120 36	210 170 20 90	310 250 260 290
3.2 Nieuwegein (*) [Collen A et al 2001] (A α 1-453 B β γ)2 a) Einer	Propositus ■				170
4. Otago [Ridgway HJ et al 1997] (A α 1-271 B β γ)2 a) Eine b) Eine	I-1 Proposita ● II-1 Sohn □	39 22	40 20	6-10 160	
Afibrinogenämie (*) [Fellowes AP et al 2000] (A α 1-148 B β γ)2 a) Eine b) Sechs	I-1 Mutter ○ I-2 Vater □ I-3 Tante 1 ○ I-4 Tante 2 ○ I-5 Tante 3 ○ II-1 Proposita ● II-2 Bruder □	 ∞	 ∞	240 180 ∅	 in Thrombozyten γ -Ketten
Afibrinogenämie [Neerman-Arbez M et al 1999] (A α 1-18 B β γ)2 a) Vier b) Fünf	I-1 Bruder 1 ■ I-2 Bruder 2 ■ I-3 Cousin 1 ■ I-4 Cousin 2 ■	 ∞ ∞ ∞	 ∞ ∞ ∞	<1 <1 <1	<1 <1 <1

Tabelle 7: Familienmitglieder von sieben Patienten mit Dysfibrinogenämie und verkürzten A α -Ketten. Thrombin- und Reptilase-Zeit sowie Fibrinogen-Aktivität und -Konzentration.

6.12 Dysfibrinogenämien mit Cystein-Substitutionen

Dysfibrinogene mit einer Cystein-Substitution, die eine neue freie Bindungsstelle für die Disulfidbrückenbildung erhalten haben, können Albumin-Moleküle binden, wie z. B. Fibrinogen Nijmegen (B β 44 Arg→Cys), Ijmuiden (B β 14 Arg→Cys) [Koopman J et al, 1992b], Dusart und Chapel Hill III (A α 554 Arg→Cys) [Koopman J et al, 1993, Wada Y et al, 1994]; Fukuoka (B β 15 Gly→Cys) [Kamura T et al, 1995], Caracas V (A α 532 Ser→Cys) [Marchi R et al, 2000] und Milano VII (γ 358 Ser→Cys) [Steinmann C et al, 1994a]. Einige der Fibrinogen-Varianten mit Cystein-Substituenten sind noch nicht auf gebundenes Albumin untersucht worden.

Die Dysfibrinogene mit Cystein-Substitutionen sind durch die Disulfid-gebundenen Additive strukturell verändert. Die Bindung von solchen Additiven wird auch posttranslatorische Modifikation des Fibrinogens genannt [Dissertation Appel D, 1994]. Vor allem gebundenes Albumin kann die Fibrinpolymerisation stören. Die Interpretation der Struktur-Funktionsbeziehung bei diesen abnormalen Molekülen ist sehr schwierig.

In den Tabellen 8-10 sind sämtliche Dysfibrinogene (insgesamt 42) mit Cystein-Substitutionen zusammengestellt. Es wurden nur die Patienten, nicht die Angehörigen berücksichtigt. Bei 13 Patienten ist eine Thromboseneigung beschrieben. Neben dem Schutz albumingebundener Komplexe vor dem Plasminabbau unterliegen die Fibrinogenmoleküle mit zusätzlicher Cystein-Substitution einer Konformitäts- und sterischer Änderung, welche die Polymerisationsstellen und Bindungsstellen so verändern, daß eine Thromboseentstehung gefördert wird. Dafür spricht auch der relativ höhere Anteil von Patienten mit Thromboseneigung unter denen mit Cystein-Substitution (31%) (s. Tab.8-10), verglichen mit dem Gesamtkollektiv der Patienten mit Dysfibrinogenämien (20%) [Mosesson MW, 1999]. Bei den Patienten, die Albumin an Fibrinogen gebunden haben, ist der Anteil derer mit Thromboseneigung noch größer (71%). Allerdings ist hier die Fallzahl bisher zu gering und Aussagen nicht zweifelsfrei möglich. Zu den Patienten mit Cystein-Substitution kommen noch die Patienten mit Verkürzung der A α -Kette, die Albumin an A α Cystein 442 gebunden haben (Fibrinogen Marburg I und Fibrinogen Milano III), die beide unter Thromboseneigung leiden. Dies unterstützt die Auffassung, daß an Fibrinogen gebundenes Albumin wesentlich zur Thromboseentstehung bei Patienten mit Dysfibrinogenämien beiträgt.

Fibrinogen-Variante	Strukturdefekt	Klinik	Albumin	FpA	FpB	Polimerisation	Stabilisation
1. Bergamo I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	normal	abnormal	k. A.
2. Bern III [28]	A α 16 Arg→Cys	k. A.	–	annormal	k. A.	k. A.	k. A.
3. Frankfurt V [21]	A α 16 Arg→Cys	Thrombophilie	–	k. A.	k. A.	abnormal	k. A.
4. Frankfurt XIII [30]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	k. A.
5. Geneva I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	normal	abnormal	k. A.
6. Hershey II [21]	A α 16 Arg→Cys	Thrombophilie	–	abnormal	k. A.	abnormal	normal
7. Homburg II [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	normal
8. Homburg III [21]	A α 16 Arg→Cys	Blutungsneigung	–	abnormal	abnormal	abnormal	normal
9. Kawaguchi I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	k. A.
10. Ledyard [21]	A α 16 Arg→Cys	Blutungsneigung	–	abnormal	normal	abnormal	k. A.
11. Leogan I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	normal
12. Mannheim III [16]	A α 16 Arg→Cys	k. A.	–	abnormal	normal	abnormal	k. A.
13. Metz I [21]	A α 16 Arg→Cys	Blutungsneigung	–	abnormal	normal	abnormal	normal
14. Osaka I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	k. A.
15. Schwarzach I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	k. A.
16. Stony Brook I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	k. A.
17. Torino I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	k. A.	k. A.	abnormal	k. A.
18. Zürich I [21]	A α 16 Arg→Cys	–	–	abnormal	k. A.	abnormal	normal
19. Caracas V [51]	A α 532 Ser→Cys	Thrombophilie	+	normal	normal	abnormal	normal
20. Chapel Hill III [98]	A α 554 Arg→Cys	Thrombophilie	+	k. A.	k. A.	abnormal	normal
21. Dusart [46, 98]	A α 554 Arg→Cys	Thrombophilie	+	normal	normal	abnormal	normal
22. Paris V [88]	A α 554 Arg→Cys	Thrombophilie	–	normal	normal	abnormal	normal

Tabelle 8: Beschriebene Fibrinogenvarianten der A α -Kette mit Cystein-Substitution

Fibrinogen-Variante	Strukturdefekt	Klinik	Albumin	FpA	FpB	Polimerisation	Stabilisation
1. Christchurch II [21]	B β 14 Arg→Cys	–	–	normal	abnormal	k. A.	k. A.
2. Ijmuiden [45]	B β 14 Arg→Cys	Thrombophilie	+	k. A.	k. A.	abnormal	k. A.
3. Seattle [21]	B β 14 Arg→Cys	–	–	normal	abnormal	abnormal	normal
4. nicht benannt [93]	B β 14 Arg→Cys	Thrombophilie	–	k. A.	k. A.	abnormal	k. A.
5. Fukuoka II [41]	B β 15 Gly→Cys	–	+	k. A.	abnormal	abnormal	k. A.
6. Ise [21]	B β 15 Gly→Cys	–	–	normal	abnormal	abnormal	k. A.
7. Nijmegen [45]	B β 44 Arg→Cys	Thrombophilie	+	normal	normal	abnormal	k. A.

Tabelle 9: Beschriebene Fibrinogenvarianten der B β -Kette mit Cystein-Substitution

Fibrinogen-Variante	Strukturdefekt	Klinik	Albumin	FpA	FpB	Polimerisation	Stabilisation
1. Bellingham [49]	γ 275 Arg→Cys	Thrombophilie	–	normal	normal	abnormal	k. A.
2. Bologna [35]	γ 275 Arg→Cys	Thrombophilie	–	normal	normal	abnormal	k. A.
3. Cedar Rapids [75]	γ 275 Arg→Cys	Thrombophilie	–	normal	normal	abnormal	normal
4. Baltimore IV [21]	γ 275 Arg→Cys	–	–	normal	normal	abnormal	normal
5. Matsumoto III [89]	γ 275 Arg→Cys	k. A.	–	k. A.	k. A.	abnormal	k. A.
6. Milano V [82]	γ 275 Arg→Cys	–	–	normal	normal	abnormal	k. A.
7. Morioka I [21]	γ 275 Arg→Cys	–	–	k. A.	k. A.	abnormal	normal
8. Osaka II [21]	γ 275 Arg→Cys	k. A.	–	normal	normal	abnormal	normal
9. Tochigi I [21]	γ 275 Arg→Cys	–	–	normal	normal	abnormal	normal
10. Tokyo II [21]	γ 275 Arg→Cys	–	–	normal	normal	abnormal	normal
11. Villajoyosa [7]	γ 275 Arg→Cys	Thrombophilie	–	normal	normal	abnormal	k. A.
12. Banks Peninsula [23]	γ 280 Tyr→Cys	Epistaxis	–	normal	normal	abnormal	normal
13. Milano VII [81]	γ 358 Ser→Cys	–	+	normal	normal	abnormal	k. A.

Tabelle 10: Beschriebene Fibrinogenvarianten der g-Kette mit Cystein-Substitution

7 Diskussion

7.1 Hypo-/Dysfibrinogenämie Giessen

Bei einem Klinikaufenthalt nach einem Polytrauma durch Verkehrsunfall zeigte sich bei der Patientin aus Giessen eine Gerinnungsstörung mit Quick-Erniedrigung, Verlängerung der aPTT, der Reptilasezeit und der Thrombinzeit sowie erniedrigtem Fibrinogen. Da Fibrinogen-Aktivität und Fibrinogen-Konzentration erniedrigt sind, wobei eine Diskrepanz zwischen dem funktionellen und immunologisch bestimmten Fibrinogen besteht, handelt es sich um eine Hypo-/ Dysfibrinogenämie. Vor dem Unfall war der Patientin lediglich eine leichte Hämatomenneigung aufgefallen. Da mehrere Operationen nötig wurden, mußte Fibrinogen substituiert werden. Die Fibrinogen-Aktivität wurde bis auf 100mg/dl angehoben. Bei diesem Wert ist erfahrungsgemäß ausreichender Schutz vor Blutungskomplikationen gegeben. Bei der ersten Operation am Unfalltag wurden Frischplasmen gegeben. Danach wurde einige Tage nicht substituiert. Zur Vorbereitung des nächsten operativen Eingriffs wurden zuerst Frischplasmen und dann Fibrinogen gegeben. Einen Tage nach Beginn der Substitution reagierte die Patientin mit Schüttelfrost, Fieber und Exanthem. Diese Reaktionen wiederholten sich bei fast jeder folgenden Substitution. Insgesamt kam es 4mal zu Reaktionen nach Substitution. Kurz vor der Geburt ihres Kindes kam es zum Auftreten eines Lungenödems. Bei der Operation im Jahr 2000 wurde zur Vermeidung einer erneuten Reaktion die Substitution von Fibrinogen erst in Narkose durchgeführt. Hierfür wurde Fibrinogen unmittelbar vor dem Eingriff in Vollnarkose gegeben. Es kam zu keiner Reaktion auf die Fibrinogen-Substitution, sie wurde von der Patientin gut vertragen.

Die Reaktionen auf Fibrinogen zeigen, daß der Körper der Patientin das normale Fibrinogen als Fremdprotein erkennt und allergisch darauf reagiert. Es könnte sein, daß die Patientin auf normales Fibrinogen reagiert, weil sie homozygot für den Strukturdefekt des Fibrinogens ist und selbst nur abnormales Fibrinogen hat. Der Strukturdefekt besteht in der starken Verkürzung der α -Kette des Fibrinogens. Die α -Kette des normalen Fibrinogens ist länger, und das normale Fibrinogen wird nun vom Immunsystem der Patientin als fremd erkannt. Vermutlich besteht ein Zusammenhang zwischen dem Grad der Strukturveränderung des Fibrinogens und der Stärke der Reaktion. Die Gabe von Fibrinogen in Narkose scheint eine gute Möglichkeit zu sein, eine Substitution durchzuführen.

Die Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen ist eine klinisch rezessiv vererbte Dysfibrinogenämie, da heterozygote Träger keine klinischen Symptome haben. Dies ist durch die niedrigen Spiegel des abnormalen Fibrinogens, bzw. noch ausreichende Spiegel normalen Fibrinogens bedingt.

7.2 Vergleich mit Hypo-/Dysfibrinogenämie Marburg

Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen hat den gleichen Strukturdefekt und die gleiche Mutation wie die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg. Die Klinik bei den beiden Patientinnen ist jedoch verschieden. Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg hat neben einer Blutungsneigung eine ausgeprägte Thromboseneigung und bekommt außerdem Hautnekrosen und Ulcera cruris. Die Patientin aus Giessen leidet unter einer Blutungsneigung nach Traumata, bei Operationen und postpartal. Sie hatte jedoch noch nie eine Thrombose. Vor den sieben operativen Eingriffen einschließlich der Sectio caesarea wurde die Patientin mit Fibrinogen substituiert, so daß eine Blutungskomplikation nicht beobachtet wurde. Nach dem Polytrauma wurde die Patientin außerdem einmalig mit Heparin behandelt, so daß nach der ersten Operation das Thromboserisiko gesenkt wurde.

7.2.1 Thromboseneigung bei Dysfibrinogenämien

Unter den Patienten mit Dysfibrinogenämien sind 20 %, die eine Thromboseneigung haben. Der erste Fall einer Dysfibrinogenämie mit Thromboseneigung wurde von Beck et al 1965 beschrieben und Fibrinogen Baltimore I genannt. Neben allgemeinen Ursachen, die zu einer Thromboseneigung führen können, wie Nikotinabusus, Schwangerschaft, Wochenbett, Operationen, Traumata und höheres Alter, gibt es eine Neigung zu Thrombosen bei den Patienten mit Dysfibrinogenämien, die durch die Strukturänderung des Fibrinogenmoleküls begünstigt wird. Typisch sind Thrombosen im jüngeren Lebensalter. Insgesamt treten Thrombosen bei Patienten mit Dysfibrinogenämien häufiger bei Frauen auf als bei Männern, was durch den Einfluß allgemein thrombosefördernder Faktoren wie Schwangerschaft und Wochenbett zu erklären ist [Haverkate F, Samama M, 1995].

Es gibt zwei Hauptmechanismen, die zur Erklärung der Thromboseneigung bei Dysfibrinogenämien genannt wurden:

- a) eine gestörte Bindung von Thrombin an Fibrinogen, die zu höheren Thrombin-Spiegeln führt. Durch den Überschuß an Thrombin wird die Thrombozytenaggregation stimuliert.
- b) eine Störung der unterstützenden Funktion des Fibrinogens bei der t-PA-vermittelten Fibrinolyse.

In vielen Fällen sind molekulare Defekte in der C-terminalen Region der γ -Kette, in der N-terminalen Region der $\beta\beta$ -Kette und in der C-terminalen Region der $\alpha\alpha$ -Kette verantwortlich für die Thromboseneigung [Köther M et al, 1988, Haverkate F, Samama M, 1995].

7.2.2 Funktionsausfälle bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg und Ursachen der Thromboseneigung bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg

Koopman stellte 1992 bei der Untersuchung von Fibrinogen Marburg I fest, daß die Proposita eine stark verminderte α -Kettenpolymerisation aufwies. Außerdem konnte er nachweisen, daß der stimulierende Effekt des C-terminalen α -Kettenendes bei der t-PA-induzierten Plasminogenaktivierung fehlt, was mit einer Thromboseneigung verbunden sein kann. Eine weitere Beobachtung war, daß Albumin an Fibrinogen gebunden ist [Koopman J et al, 1992a]. Wenn z. B. durch Kettenverkürzung eine der beiden intramolekularen Cysteinbindungsstellen für die intramolekulare Disulfidbrückenbildung fehlt, nämlich $A\alpha$ Cys 472 bei Fibrinogen Marburg und Milano III, besteht die Möglichkeit, Albumin an $A\alpha$ Cys 442 zu binden, welches die Fibrinpolymerisation stört. Für Albumin-Fibrinogenkomplexe wurde nachgewiesen, daß Albumin das abnormale Fibrin vor dem Abbau durch Plasmin schützt [Galanakis DK, 1990]. Die Bedeutung freier Bindungsstellen an Cystein-Resten für die Thromboseneigung wird durch die Rate von 31% Patienten mit Thromboseneigung unter allen Patienten mit Cystein-Substituenten bekräftigt (vergl. 6.12). Von den 7 Patienten, die nachgewiesenermaßen Albumin an den Cystein-Rest gebunden haben, entwickelten sogar 5 Patienten Thrombosen. Außerdem ist das gebundene Albumin eine Ursache für die Thrombolyse-Resistenz des Fibrinogens gegen PMNL-Elastase [Sugo T, 2000]. Diese Proteolyseresistenz gegen Elastase scheint auch eine Bedeutung für die verzögerte Wundheilung bei der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg zu haben.

Weiterhin beschrieb Koopman, daß die Endothelzellanbindung bei Fibrinogen Marburg vermindert ist. Die Endothelzellanbindung des Fibrinogens ist ein physiologischer Vorgang, der bei der Wundheilung abläuft. Nach Gefäßverletzung sammelt sich Fibrinogen und Fibrin auf dem freigelegten Subendothel und bildet einen Untergrund, auf dem sich Endothelzellen von der Seite aus anheften können, um dann weiter zu proliferieren. Dieser Vorgang führt zur Wiederherstellung des ursprünglichen Gefäßbettes [Dejana E et al, 1985]. Voraussetzung ist die Anbindung der Endothelzellen an spezifische Rezeptoren des Fibrinogens, die auf der $A\alpha$ -Kette an Position 572-574 lokalisiert sind [Cheresh DA et al, 1989]. Wegen der Verkürzung der $A\alpha$ -Kette bei Fibrinogen Marburg I fehlen diese Rezeptoren und bedingen dadurch die verminderte Bindung von Fibrinogen an Endothelzellen (vergl. 3.3.5 und 6.9). Dies führt zu mangelnder Gefäßabdichtung, die eine Blutungsneigung bedingen könnte.

Bei einer Untersuchung von Sobel 1995 wurde gezeigt, daß bei Fibrinogen Marburg I die fehlende α -Kettenregion von $A\alpha$ 461-610 eine vollständige α -Kettenpolymerbildung verhindert [Sobel JH et al, 1995].

1998 ergab eine Untersuchung von Sugo, daß nach der Spaltung von Fibrinogen Marburg I mit Thrombin und Kalzium verschiedene sog. Heteromultimere ($\alpha_m \gamma_n$) entstehen. Außerdem

wird eine pathologische Bindung des schon an die $\text{A}\alpha$ -Ketten gebundenen Albumins an die zu Dimeren vernetzten Gammaketten beobachtet. Die Fibrinmonomere können sich nicht zu großen α -Aggregaten vernetzen, Die laterale Anlagerung der Protofibrillen ist eingeschränkt, da den verkürzten α -Ketten einige Interaktionsstellen der αC -Domänen fehlen und die Albumin-Moleküle zwischen den Strängen liegen [Sugo T et al, 1998].

Die COOH-terminale Region, $\text{A}\alpha$ 208-610, spielt eine zentrale Rolle bei der Fibrinpolymerisation und Fibrinstabilisation. Sie dient als Substrat für F XIIIa während der letzten Stadien der Fibrininformation. In diesem Prozeß werden kovalente Bindungen zwischen Glutamin- und Lysin-Resten benachbarter Fibrin- α -Ketten geknüpft. Dies dient zur Stabilisation der lateralen Anlagerung, die während der frühen Polymerisationsphase erfolgte. Bei Fibrinogen Marburg ist noch die Region $\text{A}\alpha$ 208-460 vorhanden, um mit F XIIIa zu reagieren. So ist eine eingeschränkte Vernetzung bei Glutamin $\text{A}\alpha$ 328 und 366 möglich [Cottrell BA et al, 1979].

Das durch F XIIIa stabilisierte, vernetzte Fibrin Marburg, welches Albumin inkorporiert hatte, entwickelte eine starke Resistenz gegen Plasmin und dies verhinderte die Fibrinolyse des gebildeten Fibrins. Der tissue type plasminogen activator (t-PA), der die Plasminbildung fördert, wurde zwar qualitativ nachgewiesen, war aber quantitativ deutlich vermindert [Sugo T et al, 1998].

Die Thromboseneigung bei der Proposita mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg scheint in erster Linie durch die Resistenz des Fibringerinnsels gegenüber Plasmin und die verminderte t-PA-Aktivierung durch fehlende terminale α -Ketten-Peptide bedingt zu sein.

Als eine wesentliche Ursache für die Plasminresistenz des Gerinnsels und die daraus resultierende Thromboseneigung bei der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg wurde die Bindung von Albumin an das Cystein bei 442 genannt.

Bei einer Untersuchung von Sugo [Sugo T, 2002] zeigte sich, daß Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen deutlich weniger Albumin bindet (ca. 1/3) als Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg.

Bei elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Fibrin Giessen und Fibrin Marburg zeigte sich eine unterschiedliche Struktur des Fibrins [Universitätsklinik Ulm 2002]. Worauf dieser Unterschied beruht, ist noch unklar. Es könnte mit der unterschiedlichen Albumin-Bindung von Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg und Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen zusammenhängen, die auch die unterschiedlichen klinischen Auswirkungen erklärt.

7.3 Dysfibrinogenämien mit Kettenverkürzungen

Dysfibrinogenämien mit Kettenverkürzungen sind selten. Sie eignen sich besonders zu einer Struktur-Funktionsanalyse, da sich gut Zusammenhänge zwischen Funktionsausfall und fehlender Struktur herstellen lassen. Bisher sind 7 Fibrinogene mit α -Kettenverkürzungen und Hypo-/ Dysfibrinogenämie bekannt (s. Tab. 3-7) und ein Fibrinogen mit γ -Kettenverkürzung [Iida H et al, 2000].

In 2000 wurde ein weiteres Fibrinogen mit α -Kettenverkürzung und Hypo-/ Dysfibrinogenämie beschrieben, Fibrinogen Keokuk, dessen genauer Strukturdefekt noch nicht geklärt ist, und das aus diesem Grund nicht in die Tabellen aufgenommen wurde. Der Strukturdefekt liegt zwischen α 241 und 348. Die Fibrinogen-Aktivität liegt bei $<30\text{mg/dl}$ und die Thrombinzeit ist verlängert. Der 47-jährige Patient leidet unter starken Blutungen nach Traumata. Nach einer Hüft-Operation folgte eine Thrombose nach Substitutionstherapie [Velasco PT et al, 2000]. Besonders bei A- und Hypofibrinogenämien kann es nach Substitution zur Entstehung von Thrombosen kommen.

7.3.1 Struktur-/ Funktionsverlustanalyse der Dysfibrinogene mit Kettenverkürzungen

Die Funktionsausfälle bei den unterschiedlich verkürzten α -Ketten betreffen vorwiegend die Fibrinpolymerisation. Dies lässt sich durch das Fehlen eines Teils der α C-Domäne (AS 220-610) erklären, die z.B. wichtig für die laterale Anlagerung der Protofibrillen ist (vergl. 3.1.3). Die α C-Domänen unterstützen die laterale Anlagerung und regulieren den Faserdurchmesser. Bei Verkürzung der α -Kette des Fibrinogen auf 251 AS kommt es zur Ausbildung von dünneren Fasern und einer höheren Dichte des Gerinnsels [Collet JP et al, 2000]. Auch bei Fibrinogen Marburg I (460 AS) und Nieuwegein (453 AS) ist der Faserdurchmesser durch die gestörte laterale Anlagerung vermindert. Bei Fibrinogen Otago, das auf 271 AS verkürzt ist, kommt es zur Bildung von dickeren Fasern als bei normalem Fibrin.

Im Bereich der α C-Domänen liegen eine Reihe von Interaktionsstellen, deren Bedeutung im einzelnen noch nicht geklärt ist. Die Fibrinogen α C-Domänen enthalten z. B. Plasminogen und t-PA-Bindungsstellen, die bei Fibrinogen verborgen sind und nach der Umwandlung zu Fibrin freigelegt werden [Tsurupa G & Medved L, 2001]. Die Bindung von Plasminogen und t-PA an die α C-Domäne führt zu einer Aktivierung der Fibrinolyse. Dieser stimulierende Effekt wird nach der Vernetzung durch F XIIIa noch verstärkt und wird durch die Plasmin-Spaltung der α C-Domäne beendet. Diese Regelung der Fibrinolyse ist bei Fibrinogenen, denen ein Teil der α C-Domäne fehlt oder die einen Strukturfehler im Bereich der α C-Domäne haben,

gestört. Die α C-Domäne spielt also eine wichtige Rolle in Bezug auf die Formation und die biophysikalischen Eigenschaften des Fibringerinnsels und die Fibrinolyse.

Weitere Untersuchungen belegen, daß bei Gerinnseln mit einem geringeren Fibrinfaserdurchmesser die Fibrinolyse langsamer abläuft als bei Gerinnseln mit größerem Faserdurchmesser [Norfolk SE et al, 2000].

Die FpA und FpB-Freisetzung verläuft bei allen bisher beschriebenen Fibrinogenen mit verkürzter A α -Kette normal.

Bei Fibrinogen Marburg, Nieuwegein und Milano III fehlt der A α 472 Disulfidbrückenpartner. Somit ist bei Cystein 442 eine Bindungsstelle für eine Disulfidbrückenbildung frei, an die Albumin binden kann. Bei Fibrinogen Lincoln sind zwar beide Bindungsstellen vorhanden und somit die Disulfidbrückenbindung normal, aber es enthält durch die Strukturänderung ein zusätzliches Cystein an Position A α 478, das aber kein Albumin bindet. Bei Fibrinogen Otago fehlen beide Cystein-Reste. Die Patienten mit Fibrinogen Marburg und Milano III leiden unter einer Thromboseneigung, die durch das gebundene Albumin bedingt ist. Durch strukturelle Veränderungen im Fibrin(ogen) entwickelt sich eine Resistenz des Fibrin(ogen)s gegen Plasmin [Sugo T et al, 1998] und im Fall von Fibrinogen Marburg I auch gegen PMNL-Elastase [Rein K et al, 2001]. Bei der Patientin mit Fibrinogen Milano III sind allerdings auch erhöhte IgM Anticardiolipin-Antikörper und Lupus-Anticoagulant festgestellt worden, die auch Anteil an der Thromboseneigung der Patientin haben könnten.

Bei Fibrinogen Lincoln, Marburg, Milano III, Nieuwegein und Otago ist die Bindung an Thrombozyten und Endothelzellen gestört. Dies könnte an der fehlenden RGD-Sequenz bei A α 572-574 liegen. Bei Fibrinogen Nieuwegein fand sich ein Hinweis dafür, daß auch die veränderte Fibrinstruktur ein Grund für die verminderte Endothelzellbindung sein könnte. Durch ein Senken des pH-Wertes konnte die Struktur des Fibrin-Netzwerk teilweise normalisiert werden, und die Endothelzellbindung nahm zu. Bei allen hier beschriebenen Fibrinogen-Varianten fehlt die Endothelbindungsstelle.

Bis weitere Ursachen geklärt sind, müssen Menorrhagien, postpartale Blutungen und die Neigung zu Fehlgeburten auf gestörte Fibrinpolymerisation und auf den Fibrinogenmangel zurückgeführt werden. Bei der Familie mit Dysfibrinogenämie Lincoln kamen sogar bei den heterozygoten Trägern uterine Blutungen vor, deren Auslösung häufig durch sekundäre Riskofaktoren (z. B. postpartal) erfolgte. Auch bei einer heterozygoten Schwester der Proposita mit Fibrinogen Marburg kam es bei der ersten Geburt zu schweren postpartalen Blutungen. Bei den heterozygoten Frauen der Fibrinogen-Varianten Milano III und Otago sind bisher keine Komplikationen beschrieben worden.

Die Vernetzung durch F XIIIa ist bei allen fünf Dysfibrinogenen gestört. Bei der Vernetzung werden die Strukturen, die bei der lateralen Anlagerung der Protofibrillen entstanden sind, durch die Ausbildung von kovalenten Bindungen zwischen Lysin- und Glutaminresten stabilisiert. Da bei den hier beschriebenen Dysfibrinogenen die laterale Anlagerung gestört ist, ist infolge dessen auch die Vernetzung der strukturell veränderten Gerinnsel gestört. Bei Fibrinogen Nieuwegein wurde festgestellt, daß die Vernetzung durch Transglutaminase, die die α -Ketten zweier Moleküle verbindet, nicht möglich ist, da die Vernetzungsstelle der α -Kette durch die Kettenverkürzung fehlt.

Bei den beiden Afibrinogenämien fehlen sämtliche funktionelle Eigenschaften des Fibrin(ogen)s, da kein Fibrinogen sezerniert wird.

Bisher wurde ein Fibrinogen mit γ -Kettenverkürzung beschrieben. Bei Fibrinogen Hakata, besteht eine Afibrinogenämie. Es handelt sich um eine „nonsense-mutation“ im FGG (Fibrinogen γ -Kettengen), für die die Proposita homozygot ist. Eine G→T Transversion des Nukleotids 5860 im Exon 7 führte zur Entstehung eines Stop-Codons. Betroffen ist die AS γ 231, das Codon GAG (Glu) wurde geändert in TAG (Stop). Somit ist die γ -Kette, die normalerweise 411 AS enthält, auf 230 AS verkürzt. Die verkürzte γ -Kette hat ein Molekulargewicht von 26,7 kD. Die Fibrinogen-Aktivität im Plasma liegt bei <10mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration bei <17mg/dl. Bei der SDS-PAGE/Immunoblot Analyse wurden Spuren von α -Ketten gefunden, aber keine β - oder γ -Ketten. Bei den heterozygoten Trägern lag die Fibrinogen-Aktivität zwischen 89 und 148mg/dl, die Fibrinogen-Konzentration zwischen 134 und 165mg/dl, was der Hälfte der normalen Fibrinogenmenge entspricht. Die Diagnose wurde bei der Proposita gleich nach der Geburt gestellt, da sie unter einer starken Nabelschnurblutung litt. Sie erhielt vom vierten Monat an Fibrinogen Substitution. Mit 16 Jahren erhielt sie Bluttransfusionen wegen einer stark verlängerten Menstruationsblutung. In den letzten zwei Jahren seit diesem Ereignis kam es zu keinen wesentlichen Blutungen mehr [Iida H et al, 2000].

In der carboxyterminalen Region der γ -Kette sind einige wichtige intermolekulare Interaktionsstellen lokalisiert. Die Polymerisationsstelle „a“ [Doolittle RF et al, 1979], die Calcium-Bindungsstelle [Dang CV et al, 1985] und die γ - γ -Faktor XIII-Vernetzungsstelle [Matatic S, 1968] sind in dieser Region zu finden. Auch Plasminogen und t-PA interagieren mit dieser Region [Varadi A et al, 1983, Yonekawa O et al, 1992]. Bei all diesen Interaktionen kann es bei Strukturdefekten im carboxyterminalen Teil der γ -Kette zu Störungen kommen (vgl. 3.1-3.3). Bei allen Fibrinogenen mit γ -Ketten-Strukturdefekt ist die Thrombinzeit verlängert, die Fibrinpolymerisation ist gestört und die Freisetzung von FpA und FpB ist normal.

Insgesamt gesehen sind Strukturdefekte im carboxyterminalen Anteil der γ -Kette sehr häufig. Weitere Verkürzungen der γ -Kette hingegen sind bisher noch nicht beschrieben worden. Vermutlich sind einige der bisher noch nicht charakterisierten Strukturdefekte bei Afibrinoge-

nämien γ -Kettenverkürzungen. Bei 13 untersuchten Patienten mit Afibrinogenämie fand sich in 86% der Fälle eine Verkürzung der $A\alpha$ -Kette [Neerman-Arbez M et al, 2000]. Bisher sind ca. 150 Afibrinogenämien beschrieben, aber nur bei einem sehr kleinen Teil davon ist der Gendefekt charakterisiert. Bei den $A\alpha$ -Kettenverkürzungen nimmt die Fibrinogenaktivität etwa proportional zu der Verkürzung der $A\alpha$ -Kette ab (Tab. 1). Eine Ausnahme bildet hier die Dysfibrinogenämie Milano III, die nicht zu Hypofibrinogenämie führt, obwohl die Kette 10 AS kürzer ist, als bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg. Bei dieser Patientin ist jedoch Anticardiolipin Immunglobulin M erhöht, was auf einen systemischen Lupus erythematosus hinweist, der erhöhte Fibrinogenwerte im Rahmen einer Akutphasenreaktion erklären könnte.

Von großem Interesse ist nun, bei welcher α -Kettenlänge nun keine Translation des Fibrinogens in die Zirkulation mehr erfolgt. Diese Frage kann wegen des Mangels an entsprechenden bekannten Defekten noch nicht beantwortet werden. Die Hypothese von Koopman ~~be-~~ sagt aber, daß nur deswegen eine Hypofibrinogenämie entsteht, weil das veränderte Fibrinogen bereits intrazellulär wieder abgebaut wird und die Dysfibrinogene nur partiell translatiert oder nicht sezerniert werden können. Deswegen weisen wir niedrigere Fibrinogenspiegel im Blut der Patienten mit Fibrinogenvarianten und verkürzter α -Kette nach.

Das Fehlen von Fibrinogen in der Zirkulation ebenso wie in den Thrombozyten führte nach 1920 zu der Bezeichnung Afibrinogenämie. Zur Begriffsbestimmung wäre zu sagen, daß es sich nach Bestimmung des Gendefektes bei den bisher hier beschriebenen Afibrinogenämien um eine Sonderform der Dysfibrinogenämie mit verkürzter $A\alpha$ - oder γ -Kette handelt, wobei die Translation des Dysfibrinogens von der Kettenlänge abhängig zu sein scheint und bei starker Verkürzung kein Fibrinogen mehr in die Blutbahn abgegeben wird. Zusammenfassend handelt es sich also um eine Dysfibrinogenämie oder eben um eine schwere Hypo-/ Dysfibrinogenämie, klinisch jedoch um eine Afibrinogenämie, deren Heterozygote die Hälfte des normalen Fibrinogens exprimieren.

7.4 Ursachen der Hypo- und der Afibrinogenämie

Man muß vermuten, daß es bei den stark verkürzten Ketten nicht mehr zur Translation des Fibrinogens kommt. Entweder werden die Fibrinogenmoleküle bei den Hypo-/ Dysfibrinogenämien mit verkürzten $A\alpha$ -Ketten vermindert gebildet, intrazellulär abgebaut oder können intrazellulär nicht zusammengesetzt werden, so daß sie nur gering oder gar nicht in die Zirkulation sezerniert werden. Auch eine erhöhte Abbaurate in der Zirkulation kann eine Ursache sein.

In vitro wurde nachgewiesen, daß die Verkürzung der $A\alpha$ -Kette auf 252 AS (von 610 AS) zu einem 5-10fachen Abfall der Sekretion führte [Gorkun OV & Lord ST, 1996]. Bei Mäusen, die gar keine $A\alpha$ -Ketten bilden konnten, waren alle drei Kettenarten des Fibrinogens in der Zir-

kulation immunologisch nicht nachweisbar, obwohl die $\beta\beta$ - und γ -Kettengene normal waren [Suh TT et al, 1995].

Bei heterozygoten Trägern läßt sich feststellen, daß die verkürzten $\alpha\alpha$ -Ketten beim Einbau in Fibrinogen weniger berücksichtigt werden. Dies unterstützt die in vitro Studien, die zeigen, daß die $\beta\beta$ -Kette die Fibrinogensynthese limitiert und ein Überschuß an $\alpha\alpha$ - und γ -Ketten intrazelluläre Pools bildet.

In der Literatur sind noch weitere Hypo- und Afibrinogenämien beschrieben, die nicht durch Kettenverkürzungen bedingt und deren Gendefekte charakterisiert sind. In der folgenden Tabelle erfolgt eine Zusammenstellung dieser 4 Hypo- und 2 Afibrinogenämien.

Defekt	Klinische Symptome und Komplikationen	Fbg-Akt.	Fbg-Konz.
$\beta\beta$ 353 Leu→Arg; missense mutation im Exon 7 des FGB homozygot	17jähriger Italiener, der eine Nabelschnurblutung nach Geburt hatte und später gelegentlich Nasenbluten und Muskelhämatome entwickelte.	<5mg/dl	1,3mg/dl
$\beta\beta$ 400 Gly→Asp; missense mutation im Exon 8 des FGB homozygot	24jähriger Iraner mit Nabelschnurblutung nach Geburt und später Muskelhämatome und Gelenkeintrübungen nach Bagatelltraumata.	nicht messbar	1,6mg/dl
γ 82 Ala→Gly ($\beta\beta$ 235 Pro→Leu; Intron 4 T→C des FGA; 3' noncoding region A→G des FGB) heterozygot	79jähriger Patient, der nach Operation einer Leistenhernie unter einem großen Wundhämatom litt. In der Vergangenheit hatte er eine Neigung zu Nachblutungen nach Schnittverletzungen.	70mg/dl	80mg/dl
γ 82 Ala→Gly (Intron 2 GT→AT-Mutation des FGG) heterozygot	Patientin, die unter Blutungen während der Schwangerschaft litt und mehrere Fehlgeburten hatte.	90mg/dl nur Ketten mit γ 82 Ala→Gly-Mutation	k. A.
γ 284 Gly→Arg heterozygot	Patientin mit Leberzirrhose. Es fanden sich hepatische Einschlusskörperchen, die spezifisch mit Fibrinogen-Antiserum reagierten.	erniedrigt keine γ -Ketten mit Mutation	erniedrigt
γ 153 Cys→Arg; missense mutation heterozygot Fibrinogen Matsumoto IV	21jährige gesunde Frau ohne Hinweis auf Blutungs- oder Thromboseneigung.	k. A.	87mg/dl keine γ -Ketten mit Mutation

Tabelle 11: Hypo- und Afibrinogenämien, bei denen ein Defekt der β - und γ -Kette vorliegt.

Im Bereich der $\beta\beta$ -Kette sind zwei Mutationen des FGB in homozygoter Ausprägung beschrieben, die zu Afibrinogenämien führen, $\beta\beta$ 353 Leu→Arg und $\beta\beta$ 400 Gly→Asp. [Duga S et al, 2000].

Weiterhin sind 4 Patienten mit Hypofibrinogenämien beschrieben, die alle auf Mutationen im Fibrinogen- γ -Kettengen zurückzuführen sind.

Bei einem 79jährigen fanden sich nach Auftreten eines großen postoperativen Wundödems bei der Untersuchung des Gendefektes 4 unterschiedliche heterozygote Mutationen (s. Tab. 11). Untersuchungen über die Tochter des Mannes schlossen die $A\alpha$ - und die $B\beta$ -Mutationen als Ursache der Hypofibrinogenämie aus. So blieb nur die γ -Kettenmutation als Auslöser der Hypofibrinogenämie [Brennan SO et al, 2000a].

Eine Frau, die unter Blutungen während der Schwangerschaft litt und mehrere Fehlgeburten hatte, war heterozygot für eine $\gamma 82 \text{ Ala} \rightarrow \text{Gly}$ -Mutation. [Wyatt J et al, 2000].

Bei der dritten, kürzlich beschriebenen Hypo-/ Dysfibrinogenämie mit verlängerter Thrombinzeit handelt es sich um eine Patientin mit heterozygoter $\gamma 284 \text{ Gly} \rightarrow \text{Arg}$ Mutation. Die Patientin litt an Leberzirrhose [Brennan SO et al, 2000b].

Die vierte kürzlich beschriebene Hypofibrinogenämie ist durch eine heterozygote „missense mutation“ ausgelöst und heißt Fibrinogen Matsumoto IV. ($\gamma 153 \text{ Cys} \rightarrow \text{Arg}$) Die Proposita ist eine 21jährige gesunde Frau [Terasawa F et al, 1999b].

Zusammenfassend ist zu sagen, daß Kettenverkürzungen der $A\alpha$ -Kette zu Hypofibrinogenämien führen, wobei die Länge der $A\alpha$ -Kette das Ausmaß der Hypofibrinogenämie bestimmt. Darüber hinaus haben auch Veränderungen der Struktur der $B\beta$ - und der γ -Kette offenbar Einfluß auf die Menge sezernierten Fibrinogens.

8 Zusammenfassung

Bei einer Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie wurde der Gendefekt charakterisiert und eine Familienuntersuchung durchgeführt. Es stellte sich heraus, daß die gefundene Mutation identisch mit der Mutation einer Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg ist. Beide Patientinnen sind homozygot für den Defekt. Durch die geografische Nähe der Wohnorte der beiden Familien muß von einer verwandtschaftlichen Beziehung ausgegangen werden.

Beim Vergleich der beiden Hypo-/ Dysfibrinogenämien zeigte sich, daß der klinische Verlauf der homozygoten Patientinnen unterschiedlich ist: Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg hatte unter erheblichen Blutungskomplikationen bei der Geburt ihres Kindes, unter thromboembolischen Ereignissen und Ulcera cruris zu leiden. Die Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen hatte lediglich eine leichte Blutungsneigung. Bei operativen Eingriffen wurde eine Substitutionstherapie mit Frischplasmen oder Fibrinogen durchgeführt und nach einem Polytrauma auch Heparin gegeben. Auffällig waren bei der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen sich wiederholende allergische Reaktionen auf die Substitutionstherapie, die durch die Gabe von Fibrinogen unter Vollnarkose unmittelbar präoperativ vermieden werden konnten.

Bei der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg wurde nachgewiesen, daß Albumin an das Fibrinogenmolekül bei A α Cystein 442 gebunden wird und dies zu Plasminresistenz und Elastaseresistenz des Fibringerinnsels führt. Die Albuminbindung an Hypo-/ Dysfibrinogen Giessen war erheblich schwächer (ca. 1/3) als die an Hypo-/ Dysfibrinogen Marburg. Dies ist eine Erklärung für die Thromboseneigung der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg und die fehlende Thromboseneigung bei Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen.

Um die Bedeutung gebundenen Albumins an Cystein für die Thromboseneigung von Patienten mit Dysfibrinogenämie zu demonstrieren, wurden sämtliche Dysfibrinogene mit Cystein-Substituenten zusammengestellt. Es zeigte sich, daß von 7 Patienten mit Dysfibrinogenämie und gebundenem Albumin 5 Patienten Thrombosen entwickelten.

Weiterhin erfolgte eine Zusammenstellung aller bisher beschriebenen Dysfibrinogenämien mit A α -Kettenverkürzungen. Hierbei konnten den unterschiedlichen fehlenden Regionen der A α -Kette Funktionen zugeordnet werden und Rückschlüsse auf die unterschiedliche klinische Symptomatik gezogen werden. Die Verkürzung der A α -Kette mit Verkürzung der α C-Domäne führt zur Störung der Fibrinpolymerisation und nachfolgend zu Blutungskomplikationen. Die Thromboseneigung bei Fibrinogen Marburg I und Fibrinogen Milano III ist durch die Albuminbindung mit folgender Plasminresistenz des Gerinnsels und allgemeine Risikofaktoren (z. B. Postpartalperiode) ausgelöst.

Genetisch handelt es sich bei den bisher hier beschriebenen Afibrinogenämien um eine Sonderform der Dysfibrinogenämie mit verkürzter A α - oder γ -Kette, wobei die Translation des Dysfibrinogens von der Kettenlänge abhängig ist, und bei starker Verkürzung kein Fibrinogen mehr in die Blutbahn abgegeben wird. Hieraus würde sich eine grundsätzliche Änderung der bisherigen Nomenklatur ergeben. Die Begriffe „Afibrinogenämie“ und „schwere Hypofibrinogenämie“ müßten durch „Dysfibrinogenämie“ ersetzt werden.

9 Literaturverzeichnis

1. Appel D. Dysfibrinogenämien mit Thromboseneigung. Beziehung zwischen Funktionsstörung, Strukturdefekt und Thromboseinzidenz. Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 1994.
2. Asakura S, Niwa K, Tomozawa T, Jin YM, Madoiwa S, Sakata Y, Sakai T, Funayama H, Soe G, Forgerty F, Hirata H, Matsuda M. Fibroblasts spread on immobilized fibrin monomer by mobilizing $\alpha\beta 1$ -class integrin, together with a vitronectin receptor $\alpha v\beta 3$ on their surface. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 8824-8829, 1997.
3. Baradet TC, Haselgrove JC, Weisel JW. Three-dimensional reconstruction of fibrin clot networks from stereotypic intermediate voltage electron microscopic images and analysis of branching. *Biophys. Journal*, 68, 1551-1560, 1995.
4. Beck EA, Charache P, Jackson DP. A new inherited coagulation disorder caused by an abnormal fibrinogen (Fibrinogen Baltimore). *Nature*, 208, 143-145, 1965.
5. Becker W. Die Standardisierung immunchemischer Plasmaprotein-Bestimmungen. *Laboratoriumsblätter*, 30, 25-32, 1980.
6. Blombäck B, Hessel B, Hogg D, Therkildsen L. A two-step fibrinogen-fibrin transition in blood-coagulation. *Nature*, 275, 501-505, 1978.
7. Borrell M, Gari M, Coll I, Vallve C, Tirado I, Soria JM, Sala N, Munoz C, Oliver A, Garcia A. Abnormal polymerization and normal binding of plasminogen and t-PA in three new dysfibrinogenemias: Barcelona III and IV (gamma Arg 275→His) and Villajoyosa (gamma Arg 275→Cys). *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 6, 198-206, 1995.
8. Brennan SO, Fellowes AP, Faed JM, George PM. Hypofibrinogenemia in an individual with 2 coding (gamma82 A→G and Bbeta235 P→L) and 2 noncoding mutations. *Blood*, 95, 1709-1713, 2000a.
9. Brennan SO, Wyatt J, Medicina D, Callea F, George PM. Fibrinogen Brescia: hepatic endoplasmatic reticulum storage and hypofibrinogenemia because of a gamma284 Gly→Arg mutation. *Am. J. Pathol.*, 157, 189-196, 2000b.
10. Cheresh DA, Berliner SA, Vicente V, Rugger ZM. Recognition of distinctive adhesive sites on fibrinogen by related integrins on platelets and endothelial cells. *Cell*, 58, 945-953, 1989.

11. Collet JP, Mullin LL, Veklich Y, Gorkun OV, Lord ST, Weisel JW. The α C domains of fibrinogen affect the structure of the clot, its physical properties, and the rate of fibrinolysis. Abstract. Fibrinogen 2000, XVIth International Fibrinogen Workshop, Leiden, 2000.
12. Cooper J, Douglas AS. Fibrinogen level as a predictor of mortality in survivors of myocardial infarction. *Fibrinolysis* 5, 105-108, 1991.
13. Cottrell BA, Strong DD, Watt KWK, Doolittle RF. Amino acid sequence studies on the α chain of human fibrinogen. Exact location of crosslinking acceptor sites. *Biochemistry*, 18, 5405, 1979.
14. Dang CV, Ebert RF, Bell WR. Localization of a fibrinogen calcium binding site between γ -subunit positions 311 and 336 by terbium fluorescence. *Journal of Biological Chemistry*, 260, 9713-9719, 1985.
15. Dejana E, Languino LR, Polentarutti N, Balconi G, Ryckewaert JJ, Larrieu MJ, Donati EB, Mantovani A, Marguerie G. Interaction between fibrinogen and cultured endothelial cells. Induction of migration and specific binding. *Journal of Clinical Invest.*, 75, 11-18, 1985.
16. Dempfle CE, Dollman M, Lill H, Puzzovio D, Dessauer A, Heene DL. Binding of a new monoclonal antibody against N-terminal heptapeptide of fibrin alpha-chain to fibrin polymerization site A: effects of fibrinogen and fibrinogen derivatives, and pretreatment of samples with NaSCN. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 4, 79-86, 1993.
17. Denninger MH, Jandrot-Perrus M, Elion J, Bertrand O, Homandberg GA, Mosesson MW, Guillin MC. ADP-induced platelet aggregation depends on the conformation or availability of the terminal gamma chain sequence of fibrinogen: study of the reactivity of fibrinogen Paris I. *Blood*, 70, 558-563, 1987.
18. Doolittle RF, Bouma III H, Cottrell BA, Strong D, Watt KWK. The covalent structure of human fibrinogen. Bing DH, ed. *The Chemistry and Physiology of the Human Plasma Proteins*. New York: Pergamon Press, 77-95, 1979.
19. Doolittle RF. Fibrinogen and fibrin. *Haemostasis and Thrombosis*, 2nd Edn. Bloom AL, Thomas DP, eds Edinburgh: Churchill Livingstone, 163-191, 1981.
20. Duga S, Asselta R, Santagostino E, Zeinali S, Simoncic T, Malcovati M, Mannucci PM, Tenchini ML. Missense mutations in the human beta fibrinogen gene cause congenital α -fibrinogenemia by impairing fibrinogen secretion. *Blood*, 95, 1336-1341, 2000.
21. Ebert RF. *Index of variant human fibrinogens*. CRC Press, Boca Raton, 1994.

22. Fellowes AP, Brennan SO, Holme R, Stormorken H, Brosstad FR, George PM. Homozygous truncation of the fibrinogen A α chain within the coiled coil causes congenital afibrinogenemia. *Blood*, 96, 773-775, 2000.
23. Fellowes AP, Brennan SO, Ridgway HJ, Heaton DC, George PM. Electrospray ionization mass spectrometry identification of fibrinogen Banks Peninsula (gamma 280 Tyr→Cys): a new variant with defective polymerization. *British Journal of Haematology*, 101, 24-31, 1998.
24. Finlayson JS, Mosesson MW. Heterogeneity of human fibrinogen. *Biochemistry*, 2, 42-46, 1963.
25. Francis CW, Marder VJ, Martin SE. Demonstration of a large molecular weight variant of the γ -chain of normal human plasma fibrinogen. *Journal of Biological Chemistry*, 225, 5599, 1980.
26. Frantzen Handeland G, Abildgaard U, Aasen AO. Simplified assay for Antithrombin III activity using chromogenic peptide substrate. *Scand. Journal of Haematology*, 31, 427-436, 1983.
27. Fuchs G, Egbring R, Havemann K. Fibrinogen Marburg: A new genetic variant of fibrinogen. *Blut*, 34, 107-118, 1977.
28. Furlan M, Leupin L, Biasiutti FD, Lammle B. Fibrinogen Bern III: a further case of hereditary fibrinogen variants with substitution A alpha 16 Arg→Cys. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 121, 1068-1071, 1991.
29. Furlan M, Steinmann C, Jungo M, Bögli C, Baudo F, Redaelli R, Fedeli F, Lämmle B. A frameshift mutation in exon V of the A α -chain gene leading to truncated A α -chains in the homozygous dysfibrinogen Milano III. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 33129-33134, 1994.
30. Galanakis D, Spitzer S, Scharer I. Unusual A alpha 16 Arg→Cys dysfibrinogenemic family: absence of normal A alpha-chains in fibrinogen from two of four heterozygous siblings. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 4, 67-71, 1993.
31. Galanakis DK. Prolonged resistance to plasmin by fibrin polymerized in or exposed to albumin fragments. *Proc. of Int. Workshop of Fibrinogen, Rouen (Abs.)*, 716, 1990.
32. Gorkun OV, Lord ST. Recombinant fibrinogen in clot formation. *Fibrinolysis*, 10 (Suppl. 4), 7, 1996.

33. Gramse M, Bingenheimer C, Schmidt W, Egbring R, Havemann K. Degradation products of fibrinogen by elastase-like neutral protease from human granulocytes. Characterization and effects on blood coagulation in vitro. *Journal of Clinical Invest.*, 61, 1027-1033, 1978.
34. Hanss M, Biot F. A catalogue of human fibrinogen variants. Poster, Fibrinogen 2000, XVIth International Fibrinogen Workshop, Leiden, 2000.
35. Haverkate F, Samama M. Familial dysfibrinogenemia and thrombophilia. In: *Thromb. Haemost.*, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 73 (1), 151-161, 1995.
36. Henschen A, Lottspeich F, Kehl M, Southan C. Covalent structure of fibrinogen. *Ann. NY Academy of Science*, 408, 28-43, 1983.
37. Henschen A, McDonagh J. Fibrinogen, fibrin and factor XIII. *Blood coagulation* (ed. by R. F. A. Zwaal and Hemker), 171-241, Elsevier Publishers BV, Amsterdam, 1986.
38. Hubbuch A, Adema E, Wilhelm K, Ziemer S. Evaluation of a new Reptilase application on STA and STA Compact, GTH, 1997.
39. Iida H, Ishii E, Nakahara M, Urata M, Wakiyama M, Kurihara M, Watanabe K, Kai T, Ihara K, Kinoshita S, Hamasaki N. A case of congenital afibrinogenemia: fibrinogen hakata, a novel nonsense mutation of the fibrinogen gamma chain gene. *Thromb. Haemost.*, 84, 49-53, 2000.
40. Kamura T, Tsuda H, Yae Y, Hattori S, Ohga S, Shibata Y, Kawabata S, Hamasaki N. An abnormal fibrinogen Fukuoka II (Gly-B β 15 $\rightarrow$ Cys). Characterized by fibrin lateral association and mixed disulfide formation. *Journal of Biological Chemistry*, 270, 29392-29399, 1995.
41. Kant JA, Fornace AJ Jr, Saxe D, Simon MI, Mc Bride OW, Crabtree GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82: 2344-2348, 1985.
42. Kemkes-Matthes B. Untersuchungsergebnisse der Patientin mit Hypo-/ Dysfibrinogenämie Giessen. *Akten der hämostaseologischen Ambulanz und persönliche Mitteilungen*, 1990 bis 2001.
43. Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Egbring R, Lord ST. Fibrinogen Marburg: A homozygous case of dysfibrinogenemia, lacking amino acids A α 461-610 (Lys 461 AAA $\rightarrow$ Stop TAA). *Blood*, 80, 1972-1979, 1992a.

44. Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Engesser L, Navakova I, Kerst AFJA, Load ST. Abnormal fibrinogens Ijmuiden (B β Arg 14 $\rightarrow$ Cys) and Nijmegen (B β Arg 44 $\rightarrow$ Cys) form disulfide linked fibrinogen albumin complexes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 3478, 1992b.
45. Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J, Load ST, Mosesson MW, DiOrio JP, Siebenlist KS, Legrand C, Soria J, Caen JP. Molecular basis for fibrinogen Dusart (A α 554 Arg $\rightarrow$ Cys) and its association with abnormal fibrin polymerization and thrombophilia. *Journal of Clinical Invest.*, 91, 1637, 1993.
46. Köther M, Egbring R, Fuchs G, Henschen A. Bleeding and thrombotic events related to structural variants of fibrinogen. In: *Fibrinogen 3*. edited by Mosesson MW, Amrani DL, Siebenlist KR, DiOrio JP, Elsevier, Amsterdam, 333-335, 1988.
47. Köther M. Beziehung zwischen Symptomatologie, pathologischen Gerinnungsparametern und Strukturdefekt bei kongenitaler Dysfibrinogenämie. Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 1989.
48. Linenberger ML, Kindelan J, Bennett RL, Reiner AP, Côté HCF. Fibrinogen Bellingham: A γ -chain R275C substitution and a β -promoter polymorphism in a thrombotic member of an asymptomatic family. *American Journal of Hematology*, 64, 242-250, 2000.
49. Maekawa H, Yamazumi K, Matsuda M. An alpha ser 434 to N-alpha glycosylated asn substitution in a dysfibrinogen, fibrinogen Caracas II, characterized by impaired fibrin gel formation. *Journal of Biological Chemistry*, 266, 11575, 1991.
50. Marchi R, Mirshahi M, Zohar M, Collet JP, de Bosch NB, Arocha-Pinango CL, Soria J. Thrombotic dysfibrinogenemia. Fibrinogen Caracas V. Relation between very tight fibrin network and defective clot degradability. *Thrombosis Research*, 99, 187-193, 2000.
51. Martin PD, Robertson W, Turk D, Huber R, Bode W, Edwards BFP. The structure of residues 7-16 of the A α -chain of human fibrinogen bound to bovine thrombin at 2.3-Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*, 267, 7911-7920, 1992.
52. Matatic S. The identification of isopeptide crosslinks in insoluble fibrin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 30, 356, 1968.
53. Matsuda M, Sugo T, Yoshida N, Terukina S, Yamazumi K, Niwa K, Maekawa H. Structure and function of fibrinogen: insights from Dysfibrinogens. *Thrombosis and Hemostasis*, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH (Stuttgart), 82, 283-290, 1999.

54. Medved LV, Litvinovich SV, Ugarova TP. Localization of a fibrin polymerization site complementary to Gly-His-Arg sequence. *FEBS Lett*, 320, 239-242, 1993.
55. Meyer M, Kutscher G, Vogel G. The prothrombin nt20210. A allele as a risk factor for venous thromboembolism: detection of heterozygous and homozygous carriers by alternative methods. *Thrombosis Research*, 97, 359-363, 2000.
56. Mosesson MW. Dysfibrinogenemia and Thrombosis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 25, 311-319, 1999.
57. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin polymerization: appraisal of the binding events that accompany fibrin generation and fibrin clot assembly. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 8, 257-267, 1997.
58. Neerman-Arbez M, de Moerloose P, Bridel C, Honsberger A, Schönborn A, Rossier C, Peerlinck K, Claeysens S, Di Michele D, d'Oiron R, Dreyfus M, Laubriat-Bianchin M, Dieval J, Antonarakis SE, Morris MA. Mutation in the fibrinogen A α -gene account for the majority of cases of congenital afibrinogenemia. *Blood*, 96, 149-152, 2000.
59. Neerman-Arbez M, Honsberger A, Antonarakis SE, Morris MA. Deletion of the fibrinogen alpha-chain gene (FGA) causes congenital afibrinogenemia. *Journal of Clinical Invest.*, 103, 215-218, 1999.
60. Niewiarowski S. *Thromb. Haemost.*, 38, 924-934, 1977.
61. Norfolk SE, Mullin JL, Weisel JW, Lord ST. Clot lysis of two variant recombinant fibrinogens confirm that fiber diameter is a major determinant of lysis rate. Abstract. *Fibrinogen 2000, XVIth International Fibrinogen Workshop, Leiden 2000*.
62. Poller L, Thomson JM. The activated partial thromboplastin time (aPTT). In: Jespersen J, Bertina RR, Haverkate F. *A Manual of Laboratory Techniques*, Kluwer Academic Publishers, Hingham, MA, 35-40, 1992.
63. Quick AJ. A study of the coagulation defect in hemophilia and in Jaundice. *American Journal of medical Science*, 190, 501, 1935.
64. Rein K, Roales-Welsch S, Fuchs G, Dingad H, Egbring R, Schuerman M. Hemo- and thrombophilia in individuals with hypo-dys-fibrinogenemia and different truncated α -chains. Abstract. *Fibrinogen 2000, XVIth International Fibrinogen Workshop, Leiden 2000*.
65. Rein K, Roales-Welsch S, Fuchs G, Schuermann M, Sugo T, Egbring R. The loss of proteolytic properties, reduced t-PA activation, plasmin and elastase proteolysis of fi-

brin(ogen) Marburg favour the tendency for suffering from arterial and venous thrombosis skin necrosis and ulcera cruris. Poster. XVIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Paris 2001.

66. Ridgway HJ, Brennan SO, Faed JM, George PM. Fibrinogen Otago: a major α chain truncation associated with severe hypofibrinogenemia and recurrent miscarriage. *British Journal of Haematology*, 98, 632-639, 1997.
67. Ridgway HJ, Brennan SO, Gibbons S, George PM. Fibrinogen Lincoln: a new truncated α chain variant with delayed clotting. *British Journal of Haematology*, 93, 177-184, 1996.
68. Roales-Welsch S, Rein K, Katschinski M, Gerlach H, Freyenhagen E, Egbring R. Sekundäre Wundheilung ohne Narbenbildung bei einer Patientin mit kongenitaler homozygoter Hypo-/ Dysfibrinogenämie Marburg (α 1-460 β γ)₂ nach Behandlung von postnekrotischen Wunden durch Okklusion mit hydrokolloiden Verbänden. Abstract, Kongress für Wundheilungsstörung, Ulm, 1999.
69. Roy SN, Mukhopadhyay G, Redman CM. Regulation of fibrinogen assembly: transfection of Hep G2 cells with β cDNA specifically enhances syntgesis of the three component chains. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 6389-6393, 1990.
70. Roy SN, Procyk R, Kudryk BJ, Redman CM. Assembly and secretion of recombinant human fibrinogen. *Journal of Biological Chemistry*, 266, 4758-4763, 1991.
71. Shainoff JR, Dardik BN. Fibrinopeptide B in fibrin assembly and metabolism: Physiologic significance in delayed release of the peptide. *Ann. NY Acad. Sci.*, 408, 254-267, 1983.
72. Shimizu A, Nagel GM, Doolittle RF. Photoaffinity labeling of the primary fibrin polymerization site: Isolation of a CNBr fragment corresponding to g337-379. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, 2888-2892, 1992.
73. Siebenlist KR, Mosesson MW, Meh DA, DiOrio JP, Albrecht RM, Olson JD. Coexisting dysfibrinogenemia (gamma R275C) and factor V Leiden deficiency associated with thromboembolic disease. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 11, 293-304, 2000.
74. Sirridge MS. Laboratory evaluation of hemostasis. 2nd Ed. Philadelphia: Lea & Febinger, 148, 1974.
75. Smith RA, Rooney MM, Lord ST, Mosesson MW, Gartner TK. Evidence for new endothelial cell binding sites on fibrinogen. *Thromb. Haemost.*, 84, 819-825, 2000.

76. Sobel JH, Trakht I, Qi Wu H, Rudchenko S, Egbring R. α -chain cross-linking in Fibrin(ogen) Marburg. *Blood*, 86, 989-1000, 1995.
77. Soria J, Soria C, Samama M. A plasminogen assay using a chromogenic synthetic substrate: results from clinical work and from studies of thrombolysis. In: Davidson et al (eds) *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*, Raven, New York, Vol 3, 337-346, 1978.
78. Steinmann C, Bogli C, Jungo M, Lammle B, Heinemann G, Wermuth B, Redaelli R, Baudou F, Furlan M. A new substitution, gamma 358 Ser→Cys, in fibrinogen Milano VII causes defective fibrin polymerization. *Blood*, 84, 1874-1880, 1994a.
79. Steinmann C, Bogli C, Jungo M, Lammle B, Heinemann G, Wermuth B, Redaelli R, Baudou F, Furlan M. Fibrinogen Milano V: a congenital dysfibrinogenemia with a gamma 275 Arg→Cys substitution. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 5, 463-471, 1994b.
80. Stubb MT, Aschkinat H, Mayr I, Huber R, Angliker H, Stone SR, Bode W. The interaction of thrombin with fibrinogen. A structural basis for its specificity. *Europ. Journal of Biochemistry*, 206, 187-195, 1992.
81. Suenson E, Bjerrum P, Holm A, Lind B, Meldal M, Selmer J, Petersen C. The role of fragment X polymers in the fibrin enhancement of tissue plasminogen activator-catalyzed plasmin formation. *Journal of Biological Chemistry*, 265, 22228-22237, 1990.
82. Sugo T. Persönliche Mitteilung, 2000.
83. Sugo T. Persönliche Mitteilung, Januar 2002.
84. Sugo T, Nakamikawa C, Takebe M, Kohnno I, Egbring R, Matsuda M. Factor XIIIa cross-linking of the Marburg fibrin: Formation of $\alpha\mu\gamma\eta$ -heteromultimers and the α -chain-linked albumin γ complex, and disturbed protofibril assembly resulting in acquisition of plasmin resistance relevant to thrombophilia. *Blood*, 91, 3282-3288, 1998.
85. Suh TT, Holmback K, Jensen NJ, Daugherty CC, Small K, Simon DJ, Potter S, Degen JL. Resolution of spontaneous bleeding events but failure of pregnancy in fibrinogen deficient mice. *Genes Dev*, 9, 2020-2033, 1995.
86. Takagi T, Doolittle RF. Aminoacid sequences studies on plasmin derived fragments of human fibrinogen: amino-terminal sequences of intermediate and terminal fragments. *Biochemistry*, 14, 940, 1975.

87. Takashi T, Martinic D, Thomas A, Janco R, Hudson M, Baxter P, Gailani D. Familial thrombophilia associated with fibrinogen Paris V: Dusart syndrome. *Blood*, 96, 1191-1193, 2000.
88. Terasawa F, Okumura N, Higuchi Y, Ishikawa S, Tozuka M, Ishida F, Kitano K, Katsuyama T. Fibrinogen Matsumoto III: a variant with gamma 275 Arg→Cys (CGC→TGC)-comparison of fibrin polymerization properties with those of Matsumoto I (gamma 364 Asp→His) and Matsumoto II (gamma 308 Asn→Lys). *Thromb. Haemost.*, 81, 763-766, 1999a.
89. Terasawa F, Okumura N, Kitano K, Hayashida N, Shimoska M, Okazaki M, Lord ST. Hypofibrinogenemia associated with a heterozygous missense mutation gamma 153 Cys to Arg (Matsumoto IV): in vitro expression demonstrates defective secretion of the variant fibrinogen. *Blood*, 94, 4122-4131, 1999b.
90. Tsurupa G, Medved L. Identification and characterization of novel t-PA- and plasminogen binding sites within fibrin(ogen) alpha C-domains. *Biochemistry*, 40, 801-808, 2001.
91. Vakalopoulou S, Mille-Baker B, Mumford A, Manning R, Laffan M. Fibrinogen Bbeta 14 Arg→Cys: further evidence for a role in thrombosis. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 10, 403-408, 1999.
92. Varadi A, Patthy L. Location of plasminogen-binding sites in human fibrin(ogen). *Biochemistry*, 22, 2440-2446, 1983.
93. Veklich YI, Gorkun OV, Medved LV, Nieuwenhuizen W, Weisel JW. Carboxyl-terminal portions of the α -chains of fibrinogen and fibrin: localization by electron microscopy and the effects of isolated α C fragments on polymerization. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 13577-13585, 1993.
94. Velasco PT, Lefebvre P, Green D, Lorand L. A new case of hypo/dysfibrinogenemia characterized by severe truncation of the A α chain of fibrinogen. Poster. Fibrinogen 2000, XVIth International Fibrinogen Workshop, Leiden 2000.
95. Voskuilen M, Vermond A, Veeneman GH, van Boom JH, Klasen EA, Zegers ND, Nieuwenhuizen W. Fibrinogen lysine residue A α 157 plays a crucial role in the fibrin-induced acceleration of plasminogen activation, catalyzed by tissue-type plasminogen activator. *Journal of Biological Chemistry*, 262, 5944-5946, 1987.

96. Wada Y, Load ST. A correlation between thrombotic disease and a specific fibrinogen abnormality ($A\alpha$ 554Arg→Cys) in two unrelated kindred, Dusart and Chapel Hill III. *Blood*, 84, 3709, 1994.
97. Wyatt J, Brennen SO, May S, George PM. Hypofibrinogenemia with compound heterozygosity for two γ chain mutations- γ 82 Ala→Gly and an Intron two GT→AT splice site mutation. *Thromb Haemost*, 84, 449-452, 2000.
98. Yonekawa O, Voskuilen M, Nieuwenhuizen W. Localization in the fibrinogen γ -chain of a new site that is involved in the acceleration of the tissue-type plasminogen activator-catalyzed activation of plasminogen. *Biochemistry.*, 283, 187-191, 1992.

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Kemkes-Matthes und bei Herrn Prof. Dr. med. Egbring für ihre wertvollen und hilfreichen Anregungen, ihren ungewöhnlich großzügigen Zeiteinsatz, ihr nie nachlassendes Interesse am Fortgang der Arbeit und die freundschaftliche Art bedanken. Ich fühlte mich stets bestens betreut.

Außerdem möchte ich mich herzlich bei Frau Nees bedanken, die mich bei den Bestimmungen der Laborwerte unterstützt hat.

Stuttgart, 15.10.2002