

Diplomarbeit

**Faktor XIII-Mangel in der
internistischen Intensivmedizin**

Retrospektive Datenanalyse über die Jahre 2014-2019

eingereicht von

Nikolaus Schneider

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Innere Medizin – Allgemeine Intensivstation

unter der Anleitung von

**Assoz.-Prof. PD Dr. Philipp Eller, MBA
FA Dr. Alexander Christian Reisinger**

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 31.01.2022

Nikolaus Schneider eh

Danksagungen

An erster Stelle möchte ich meinen Mitbetreuer Dr. Alexander Reisinger erwähnen. Er hat es geschafft, meine Faszination für wissenschaftliches Arbeiten zu wecken und hat einige seiner freien Nachmittage investiert, um mir seine Herangehensweise an die Medizin als Naturwissenschaft beizubringen. Dies half mir nicht nur immens diesen Text zu verfassen und statistische Grundlagen zu lernen – ich möchte mich nun auch zukünftig in der Forschung engagieren.

Alex, du hast für mich eine große Vorbildfunktion hinsichtlich deiner fachlichen Kompetenz, deiner analytischen Skepsis und deiner Motivation für Lehre.



Der gleiche Dank gebührt Prof. Philipp Eller, von dem ich, während des Verfassens dieser Arbeit und in den zwei Monaten, die ich im klinisch praktischen Jahr auf der Allgemeinen Intensivstation mitarbeiten durfte, unterstützt worden bin. In der Zeit meines Praktikums wurden mir unzählige Fragen beantwortet und ein großes Maß an Vertrauen geschenkt. Auf wenigen Abteilungen habe ich bisher ein so progressives und professionelles Vorgehen sowie gleichzeitig freundliches Klima erlebt. Für diese Erfahrung und die lehrreiche Zeit möchte ich mich ganz herzlich bei ihm, stellvertretend für das gesamte Team der Allgemeinen Intensivstation, bedanken.



Ich möchte meiner Familie danken – besonders meinen Eltern und Großeltern, die mich stets motivieren und unterstützen, und nicht minder meiner Schwester, die mich immer aufzuheitern weiß. Ich danke auch meinem Freundeskreis, mit dem ich mich an so viele herausfordernde, anstrengende und schöne Momente rund um das Studium erinnern darf.



Formal am Ende dieser Seite, in der Realität jedoch über allem, steht meine Partnerin, Kollegin und beste Freundin Leonie. Zeitgleich schrieb sie ihre Abschlussarbeit – dadurch lernten wir Daten zu akquirieren und zu interpretieren, konnten die Faszination und Freude an der Forschung entdecken und haben auch so manche Träne miteinander getrocknet. Für die vergangenen und zukünftigen Abenteuer, die ich mit dir erleben darf, bin ich unglaublich dankbar.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungen und deren Erklärung	6
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	9
Zusammenfassung	10
Abstract	11
1 Einleitung	12
1.1 Allgemeines zur Blutgerinnung	13
1.1.1 Vasokonstriktion	14
1.1.2 Primäre Hämostase (zelluläre Hämostase)	14
1.1.3 Sekundäre Hämostase	18
1.2 Faktor XIII	24
1.2.1 Historischer Hintergrund	24
1.2.2 Biochemie	25
1.2.3 Funktionen	28
1.2.4 Hereditärer Mangel	31
1.2.5 Erworbener Mangel	34
1.2.6 Therapeutische Ansätze	36
1.3 Gerinnungstests	37
1.3.1 Globalgerinnungstests	37
1.3.2 Thrombelastometrie	37
1.3.3 Quantitative Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität	38
2 Material und Methoden	39
2.1 Forschungsdesign und Population	39
2.2 Definitionen und vordefinierte Subgruppen	39
2.2.1 Beobachtungszeitraum und F. XIII-Mangel	39
2.2.2 Diagnosekategorien	40
2.2.3 Blutungslokalisierung	40
2.2.4 Vortestwahrscheinlichkeit und Substitution	41
2.3 Erhebung der Daten	41
2.4 F. XIII Messung	42

2.5	Zielgrößen.....	43
2.5.1	Hauptzielgröße.....	43
2.5.2	Nebenzielgröße.....	43
2.6	Statistische Auswertung.....	43
2.7	Ethikvotum	43
3	Ergebnisse	44
3.1	Gesamt-Patient*innenkollektiv	44
3.1.1	Aufenthaltsdauer.....	46
3.1.2	F. XIIIa-Aktivität.....	46
3.1.3	Mortalität	47
3.2	Detaillierte Ergebnisse bei erniedrigter F. XIIIa-Aktivität	47
3.2.1	Mortalität	48
3.2.2	Ursachenforschung.....	48
3.2.3	Menge & Anzahl der Substitutionen.....	49
3.2.4	F. XIIIa-Aktivität nach Substitution	49
3.3	Detaillierte Ergebnisse zu Blutungen	50
3.3.1	Blutungslokalisationen	51
3.3.2	F. XIIIa-Aktivität.....	52
3.3.3	Aufenthaltsdauer.....	52
3.3.4	Mortalität.....	52
4	Diskussion.....	53
4.1	F. XIIIa-Aktivität.....	53
4.2	Indikation der Substitution.....	53
4.3	Dosierung der Substitution.....	54
4.4	Mortalität	55
4.5	Ursachen des F. XIII-Mangels.....	56
4.6	Blutungen bei F. XIII-Mangel.....	56
4.7	Limitationen.....	57
5	Ausblick.....	58
6	Conclusio	59
7	Literaturverzeichnis	60

Abkürzungen und deren Erklärung

12-HETE	12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid
a	Aktiviert
α 2-PI	Alpha2-Plasmin Inhibitor
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
ANS	Akute Nierenschädigung
APC	Aktiviertes Protein C
AP-F. XIII	F. XIII - activation peptide
ATIII	Antithrombin III
ATP	Adenosintriphosphat
Ca ²⁺	Kalzium
Cab	Ca ²⁺ -Bindungsstelle
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
cF. XIII	Zytoplasmatischer Faktor XIII
CTAP-3	Connective tissue activating peptid 3
EGF	Epidermal growth factor
ENA-78	Epithelial neutrophil activating protein 78
EXTEM	Extrinsische Thrombelastometrie
F.	Faktor
FIBTEM	Thrombozyten-gehemmte Thrombelastometrie
GAS 6	Growth arrest specific gene 6
GDP	Guanosindiphosphat
GLUT	Glukosetransporter
GP	Glykoprotein
GRO- α	Growth related oncogene- α
GTP	Guanosintriphosphat
HWZ	Halbwertszeit
ICU	Intensivstation (intensive care unit)
IP3	Inositol-1,4,5-Trisphosphat
kb	Kilobasen
kDa	Kilodalton
KHK	Koronare Herzkrankheit

LAMP	Lysosome-associated membrane protein
LKH	Landeskrankenhaus
MCF	Maximale Amplitude („maximum clot firmness“)
MCP-3	Monocyte chemotactic protein-3
mg	Milligramm
Mg ²⁺	Magnesium
MIP-1α	Macrophage inflammatory protein-1α
mL	Milliliter
mmol	Millimol
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NAP-2	Neutrophil activating protein-2
OR	Odds ratio
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PEV	Platelet-derived extracellular vesicles
PDGF	Platelet-derived growth factor
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat
pF. XIII	Plasmatischer Faktor XIII
RANTES	Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted
ROTEM®	Thrombelastometrie („rotational thromboelastometry“)
SDF-1a	Stromal derived factor 1a
Tab.	Tabelle
TEG®	Thrombelastographie
TF	Tissue factor
TGF-β	Transforming growth factor β
TXA2	Thromboxan A2
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VV-ECMO	Veno-venöse extrakorporale Membranoxygenierung
vWF	Von-Willebrand-Faktor
z.B.	Zum Beispiel
µm	Mikrometer

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Das Fibrinogen Molekül	23
Abb. 2: Aktivierung von F. XIII	27
Abb. 3: Bildung von Fibrin-Querverbindungen durch F. XIIIa	29
Abb. 4: Erwartbare F. XIIIa-Aktivität und Antigen-Konzentrationen bei hereditärem und erworbenem F. XIII-Mangel	32
Abb. 5: Molekülstruktur von F. XIII	32
Abb. 6: Altersverteilung (gesamt)	44
Abb. 7: Gruppenverteilung F. XIIIa-Aktivität & Substitution	45
Abb. 8: F. XIIIa-Aktivität abhängig vom Geschlecht	46
Abb. 9: F. XIIIa-Aktivität vor Substitution	47
Abb. 10: Veränderung der F. XIIIa-Aktivität durch Substitution	49
Abb. 11: Verteilung der Blutungen.....	50
Abb. 12: Verteilung von singulären und multiplen Blutungen	51
Abb. 13: F. XIIIa-Aktivität in Abhängigkeit von Blutungen	52

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Inhaltsstoffe und Membranproteine der thrombozytären Granula	17
Tab. 2: Gerinnungsfaktoren.....	19
Tab. 3: Gruppenverteilung F. XIIIa-Aktivität & Substitution	45
Tab. 4: Häufigkeiten der Diagnosen bei F. XIII-Mangel.....	48
Tab. 5: Veränderung der F. XIIIa-Aktivität durch Substitution	49
Tab. 6: Verteilung von singulären und multiplen Blutungen	51

Zusammenfassung

Einleitung: Der Clot-stabilisierende Gerinnungsfaktor F. XIII katalysiert als Transglutaminase die Bildung von Querverbindungen zwischen zwei Fibrinmolekülen. Die vorliegende Arbeit soll die Häufigkeit und die Effekte einer Substitutionstherapie bei Patient*innen einer internistischen Intensivstation (ICU) untersuchen und einen Überblick über die möglichen Ursachen eines F. XIII-Mangels dieses Patient*innenkollektiv verschaffen.

Material & Methoden: Diese retrospektiven Datenanalyse inkludierte alle Patient*innen der Allgemeinen ICU des LKH-Universitätsklinikum Graz bei denen im Zeitraum 2014-2019 die F. XIIIa-Aktivität bestimmt wurde. Mortalitätsdaten, ICU-Aufenthaltsdauer, Zeitpunkte und Dosierung der Substitutionstherapie, Vorliegen von Blutungen und Diagnosen wurden erfasst. Eine Unterteilung in 4 Gruppen wurde aufgrund einer normalen/reduzierten F. XIIIa-Aktivität (<70 %) und durchgeführter/nicht-durchgeführter Substitution vorgenommen. Bei sequenziellen Messungen wurde die Dynamik der F. XIIIa-Aktivität ausgewertet.

Ergebnisse: Insgesamt wurde bei 90 Fällen die F. XIIIa-Aktivität zumindest einmal gemessen. Die mediane F. XIIIa-Aktivität betrug 50 [39-64] %. Bei 70 Fällen lag ein F. XIII-Mangel vor. Die häufigsten Ursachen waren gastrointestinale Ulcera und Erosionen bzw. sonstige GI-Blutungen. Eine Substitutionstherapie wurde bei 39 % der Patient*innen mit F. XIII-Mangel eingeleitet. Die Gruppe der substituierten Patient*innen wies zuvor signifikant niedrigere F. XIIIa-Aktivitäten als die Nicht-Substitutions-Gruppe auf (37 [30-43] % vs. 50 [41-59] %, $p < 0,0001$). Die F. XIIIa-Aktivität stieg nach erfolgter Substitution signifikant an ($p < 0,0001$). Bei klinischen Blutungszeichen war die F. XIIIa-Aktivität im Vergleich zu jenen Patient*innen ohne Blutungen signifikant verringert (48 [38-60] % vs. 60 [45-78] %; $p = 0,041$).

Konklusion: In dieser retrospektiven Datenanalyse von Patient*innen der medizinischen Intensivstation des LKH-Universitätsklinikums Graz über 6 Jahre mit insgesamt 90 Aufenthalten zeigte sich keine Assoziation von F. XIII mit der ICU- und 28-Tages-Mortalität. Die Therapie mit F. XIII-Konzentrat konnte jedoch signifikant die gemessene F. XIIIa-Aktivität anheben. Ob die Substitution von F. XIII Blutungskomplikationen positiv beeinflussen kann, gilt es in prospektiven Studien zu untersuchen.

Abstract

Introduction: Clot-stabilizing coagulation factor F. XIII mediates the covalent cross-linking between two fibrin molecules. Hereditary and acquired F. XIII-deficiency can lead to severe bleeding complications. This thesis aimed to determine the frequency and effects on outcomes of a F. XIII-deficiency in patients of a medical intensive care unit (ICU). Furthermore, the underlying diseases causing F. XIII-deficiency in this setting were investigated.

Materials & Methods: This retrospective data analysis included all patients in the medical ICU of the LKH University Hospital Graz in whom F. XIIIa activity was determined from 2014 to 2019. Mortality data, ICU length of stay, timing and dosage of replacement therapy, presence of bleeding and underlying diseases were recorded. Subdivision into 4 groups was based on normal/reduced F. XIIIa activity (<70 %) and the presence/absence of a substitution. Sequential measurements were used to evaluate the dynamics of F. XIIIa activity.

Results: F. XIIIa activity was determined at least once in 90 cases during the investigated period. The median F. XIIIa activity was 50 [39-64] %, and F. XIII-deficiency was present in 70 cases. The most common cause was the presence of a gastrointestinal ulcer or any other GI-bleeding. F. XIII replacement therapy was initiated 39 % of patients with F. XIII deficiency. The group of patients treated with F. XIII concentrate had significantly lower F. XIIIa activities before replacement compared to those not receiving F. XIII concentrate (37 [30-43] % vs. 50 [41-59] %, $p < 0.0001$). However, F. XIIIa activity increased significantly following substitution ($p < 0.0001$). Patients with clinical signs of bleeding had significantly lower F. XIIIa activity compared to those without bleeding (48 [38-60] % vs. 60 [45-78] %; $p = 0.041$).

Discussion: In this retrospective data analysis of patients of a medical ICU over 6 years with a total of 90 cases, F. XIII deficiency had no association with ICU and 28-day mortality. Intravenously administered F. XIII concentrate effectively increased measured F. XIIIa activity. Whether F. XIII substitution can positively influence bleeding complications remains to be investigated in prospective studies.

1 Einleitung

Aufgrund des komplexen Zusammenspiels von zellulären und plasmatischen Blutbestandteilen und der Gefäßstruktur mit dem umliegenden Gewebe ist es dem gesunden, menschlichen Organismus möglich Blutungen rasch und nachhaltig zu stoppen. Unterschiedliche extrinsische oder intrinsische Veränderungen können diesen Mechanismus beeinträchtigen, wodurch es zu unproportional starken Blutungen durch kleinste Traumata oder gar spontanen Blutungen kommen kann. Diese sind zum Teil refraktär auf äußerliche Interventionen wie direkten Druck, chirurgische Umstechung und lokale bzw. topische Anwendung von Vasokonstriktoren.

Die labormedizinischen Fortschritte der letzten Jahrzehnte machen es möglich, Konzentration und Aktivität verschiedener gerinnungsassoziierter Plasmaproteine einzeln zu messen – darunter auch Faktor XIII (Fibrinstabilisierender Faktor).

In dieser Arbeit sollen Faktor (F.) XIIIa-Aktivitätsmessungen und klinische Verläufe von Patient*innen der Allgemeinen Intensivstation der Universitätsklinik für Innere Medizin am LKH-Universitätsklinikum Graz herangezogen werden, um die Häufigkeit einer Substitution zu untersuchen. Weiters soll der Effekt auf die Mortalität sowie die Ursachen eines F. XIII-Mangels in dieser Population eruiert und diverse Blutungskomplikationen ausgewertet werden.

Die hier ermittelten Ergebnisse können als Grundlage für zukünftige klinische Studien dienen, um das Management von Blutungen während intensivmedizinischer Behandlung zu verbessern.

1.1 Allgemeines zur Blutgerinnung

Die Blutstillung stellt einen lebensnotwendigen Vorgang des menschlichen Körpers dar. Jegliche Verletzung des Endothels führt innerhalb kürzester Zeit zu einer komplexen Reaktion, um den Defekt schnellstmöglich zu beheben. In der medizinischen Literatur findet sich oft der Begriff „Hämostase“, aus dem altgriechischen αἷμα *haíma* „Blut“, und von στάσις *stasis* „Stockung, Stillstand“, wenn auch die Hämostase zusätzlich modulatorisch auf immunologische Reaktionen wirkt (1). Die Hauptaufgaben der Hämostase sind Wundheilung und Minimierung des Blutverlustes. Essenziell ist dabei die Balance der benötigten Mechanismen, die zur Blutgerinnung beitragen. Die Gerinnungskaskade, eine Abfolge von enzymatischen Vorgängen durch körpereigene Eiweiße im Blut, hat das Ziel Thrombozyten semipermanent miteinander zu verbinden, um ein stabiles Blutgerinnsel zu bilden. Endothel und umliegendes Gewebe stellen den physiologischen Reiz zur Initiation des Vorgangs dar. Dieser wird zur groben Orientierung in drei Phasen unterteilt:

- Vasokonstriktion

- Primäre Hämostase: Anlagerung und Aktivierung von Thrombozyten als „Erstversorgung“ des Endothel-/Gewebsdefekts

- Sekundäre Hämostase: Aktivierung von Gerinnungsfaktoren als Organisation eines Blutgerinnsels und endgültiger Verschluss

Der eigentlichen Blutgerinnung (sekundären Hämostase) steht die Fibrinolyse gegenüber. Sie reguliert die Bildung von Thromben (Abbau) und ist maßgeblich an der Wundheilung beteiligt (2).

1.1.1 Vasokonstriktion

Die Verkleinerung des Gefäßdurchmessers ist die erste und schnellste Maßnahme zu Verringerung des Blutverlustes. Der erhöhte mechanische Zug führt über mechanosensitive Ionenkanäle zur Erhöhung der zytoplasmatischen Kalziumkonzentration in den glatten Gefäßmuskelzellen. Der dadurch entstandene lokale Spasmus kann bis zu Stunden anhalten. In dieser Zeit beginnt die Hämostase im engeren Sinn die Blutung mit einem Blutgerinnsel zu stoppen (3).

Weitere Faktoren, die zu einer Erhöhung der myozytären Kalziumkonzentration führen, sind Adrenalin, Fibrinopeptid B (Abspaltungsprodukt von Fibrinogen), Serotonin und Thromboxan A₂ (TXA₂) (4). Die beiden letzteren werden von aktivierten Thrombozyten sezerniert [siehe Kapitel 1.1.2.3: *Aktivierung und Sekretion*].

1.1.2 Primäre Hämostase (zelluläre Hämostase)

Eine Läsion des Endothels führt zu freiliegenden Proteinen, wobei Kollagen den primären Trigger für die Blutstillung darstellt. Molekularbiologisch wird zwischen unterschiedlichen Kollagen-Subtypen unterschieden. Typ I (zugstabil, interstitiell), Typ III (netzartige Struktur in dehnbarem Gewebe, interstitiell) und Typ IV (Teil der Basalmembran) befinden sich unter anderem subendothelial und sind die Bindungsstelle für Von-Willebrand-Faktor (vWF) (5,6). vWF wird ausschließlich in Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert. Dieser wird bei Bindung von Thrombin oder Fibrin an die Endothelzelle als hochmolekulare- und „ultragroße“-vWF-Multimere sezerniert. Sie untergehen einer Konformationsänderung, wodurch die Bindungsstelle für Thrombozyten freigegeben wird. Eine weitere wichtige Funktion des vWF ist die Komplexbildung mit im Plasma zirkulierendem F. VIII. Diese verhindert, dass F. VIIIa von aktiviertem Protein C (APC), einem potenter physiologischer Gerinnungshemmer, inaktiviert wird (2,7).

Vereinfacht kann die zelluläre Hämostase in drei Phasen unterteilt werden. Diese laufen zum größten Teil parallel zueinander ab (8).

1. Thrombozytenadhäsion
2. Reversible Thrombozytenaggregation
3. Aktivierung und Sekretion („Freisetzungsreaktion“)

1.1.2.1 Thrombozytenadhäsion

Zunächst geschieht die Anlagerung der Blutplättchen an der Gefäßwandläsion. Als Bindungsstelle auf den Thrombozyten dienen membranständige Glykoproteine (GP). Als Erstkontakt wird die Verbindung von GP Ib-V-IX mit vWF beschrieben – das sogenannte „tethering“. Zusätzlich verbinden sich Thrombozyten auch direkt mit freiliegendem Kollagen der Gefäßwand über GP VI (9,10).

Durch die schnelle Strömung bei Koppelung der Rezeptoren mit ihren Liganden bilden sich langgezogene Membranschläuche („tether“). Diese Bremsen den Thrombozyten ab und erhöhen dadurch seine Verweildauer (11). Durch die Bindung von vWF an GP Ib-V-IX wird Adenosindiphosphat (ADP) ausgeschüttet, das als Ligand für P2Y₁- und P2Y₁₂-Rezeptoren fungiert (9). Deren Aktivierung führt unter anderem eine Konformationsänderung der $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Integrine (Fibrinogenrezeptor; früher GP-IIb-IIIa) herbei. Zusammen mit dem Integrin $\alpha_2\beta_1$ (Kollagenrezeptor) führen die Interaktionen dieser Proteine mit ihren Liganden zu einer weiteren Formänderung der Blutplättchen. Abflachung („spreading“) und Ausbildung von Pseudopodien vergrößern die Kontaktfläche zum Subendothel, um eine stabilere Verbindung herzustellen. Diese wird durch Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ verstärkt, das vorerst noch reversibel an vWF bindet. Diese wird vor allem von ADP und TXA₂ in den darauffolgenden Schritten in eine irreversible Bindung überführt. Weitere Thrombozyten lagern sich über an $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Integrinen gebundenes Fibrinogen an den Thrombus an (2). Als regulatorisches Enzym der vWF-Multimere wird ADAMTS13 („a disintegrin and metalloprotease with a thrombospondin type 1 motif, member 13“) beschrieben. Diese Metalloprotease wird in den hepatischen Ito-Zellen sowie Endothelzellen produziert. Seine proteolytischen Eigenschaften spalten vWF-Multimere, wobei der durch den Blutfluss generierte Scherstress vWF erst zum geeigneten Substrat macht (12).

1.1.2.2 Thrombozytenaggregation

Die Vernetzung der Thrombozyten untereinander wird ebenso über Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ bewerkstelligt, das im Ruhezustand des Thrombozyten diffus auf dessen Zellemembran verteilt ist (9,13). Jeweils ein Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ zweier Thrombozyten verbindet sich mit einem Fibrinogenmolekül, wodurch ein vorläufiges Netzwerk entsteht. Es wird vermutet, dass Thrombospondin-1, das von aktivierten

Thrombozyten freigesetzt wird, diese Integrin-Fibrinogen-Integrin-Brücken zusätzlich stabilisiert (14).

1.1.2.3 Aktivierung und Sekretion

Als potenzielle Liganden für die Aktivierung der Thrombozyten gelten neben vWF auch körpereigene, lokale und zirkulierende Proteine (Kollagen, Fibrinogen, Fibrin, Thrombin, plättchenaktivierender Faktor), Hormone (TXA₂, Serotonin), niedermolekulare Stoffe (ADP), aktiviertes Endothel, aktivierte Thrombozyten und Strukturen pathogener Mikroorganismen, wie Bakterien und Pilze (2). Durch die zytoplasmatische Reaktion der jeweiligen Rezeptorproteine kommt es zum Anstieg der thrombozytären Kalzium (Ca²⁺)-Konzentration, die wiederum die Exozytose der Granula bewirkt. Diese sekretorischen Organellen der Blutplättchen werden in α-Granula, elektronendichte (δ-)Granula und Lysosomen (λ-Granula) unterteilt. Coppinger et al. konnten über 300 unterschiedliche, sezernierte Proteine identifizieren, nachdem Thrombozyten mit Thrombin aktiviert wurden (15). Weiters beinhalten die Granula unzählige, molekulare Verbindungen, die nicht nur in der Hämostase, sondern auch bei immunologischen Prozessen und der Wundheilung eine Rolle spielen [siehe Tab. 1: *Inhaltsstoffe und Membranproteine der thrombozytären Granula*] (2). Trotz der Menge an unterschiedlichen Liganden scheint die Aktivierung immer nach derselben Abfolge zu verlaufen. Dabei bestimmt die Art und Menge der Liganden, ob ein Thrombozyt mit Fibrinogen eine anhaltende Bindung im Netzwerk eingeht, oder sich wieder von seinem initialen Kontakt löst. Besonders TXA₂ hat bei der Verstärkung der sekretorischen Signale einen besonderen Stellenwert: Über den G-Protein-gekoppelten TXA₂-Rezeptor führt es selbst wiederum zu vermehrter Produktion und Sekretion von TXA₂. Über den G_q-Phospholipase β-Pfad kommt es zu einer autokrinen, positiven Feedback-Schleife. Diese Vorgänge sind notwendig, da freies TXA₂, bei einer mittleren Halbwertszeit (HWZ) von nur etwa 30 Sekunden, innerhalb kürzester Zeit durch Hydrolysierung inaktiviert wird (16).

Auch für ADP und Serotonin wurden positive Feedback-Schleifen identifiziert. ADP bedingt das Anhalten der durch Thrombin- und TXA₂-induzierten Thrombozytenaktivierung. Der G_q-Protein-gekoppelte Serotonin-Rezeptor 5-HT_{2A} erhöht ebenfalls über Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphat (PIP₂) und Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP₃) die zytoplasmatische Ca²⁺-Konzentration (2).

α-Granula

<i>Adhäsionsmoleküle</i>	Fibrinogen, Von-Willebrand-Faktor, Thrombospondin-1, Fibronektin, Vitronektin
<i>Prokoagulatorische Faktoren</i>	Faktor V, VII, XI, XIII, Multimerin, Matrixmetalloproteinasen, Kininogen, GAS6
<i>Antikoagulatorische Faktoren</i>	Plasminogen, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 2, Tissue Factor Pathway Inhibitor, Protein C, Protein S, α2-Antiplasmin, α2-Makroglobulin, α2-Antitrypsin, Proteasenexin-2, Matrixmetalloproteinasen
<i>Chemokine, Entzündungsmodulatoren</i>	Plättchenfaktor 4, β-Thromboglobulin, MIP-1α, MCP-3, GRO-α, Interleukin-1β, plättchenaktivierender Faktor, 12-HETE, NAP-2, ENA-78, CTAP-3, RANTES, SDF-1α, Kininogen, Komplementfaktoren
<i>Wachstumsfaktoren</i>	TGF-β, EGF, VEGF, PDGF
<i>Antimikrobielle Peptide, Immunmodulatoren</i>	Platelet basic protein, Thrombocidin, Fibrinopeptid A & B, Thymosin-β-4, β-Lysin, Immunglobuline (A, G, M), Komplementfaktoren
<i>Sonstige Proteine</i>	Albumin, histidinreiches Protein, Prionprotein, Amyloid-β-Peptid
<i>Membranproteine</i>	P-Selektin (CD62P), α _{IIb} β ₃ -Integrin, α _v β ₃ -Integrin, CD36, CD9, GLUT-3

Elektronendichte Granula (δ-Granula)

<i>Nukleotide</i>	ADP, ATP, GDP, GTPα
<i>Transmitter</i>	Serotonin, Histamin
<i>Kationen</i>	Ca ²⁺ , Mg ²⁺
<i>Membranproteine</i>	Granulophysin (CD63, LAMP-3), LAMP-2

Lysosomen (λ-Granula)

<i>Proteasen</i>	Kathepsin D und E, Elastase, Kollagenase, Carboxypeptidasen, Heparinase
<i>Membranproteine</i>	LAMP-1, LAMP-2, LAMP-3

Tab. 1: Inhaltsstoffe und Membranproteine der thrombozytären Granula

Aus: Pötzsch B, Madlener K. Hämostaseologie: Grundlagen, Diagnostik und Therapie. 2. Auflage. Heidelberg: Springer Berlin; 2010. 972 p., S. 69; Permission to use this figure has been granted by Springer Nature. Die Verwendung des Inhalts wurde von Springer Nature genehmigt.

1.1.3 Sekundäre Hämostase

Der durch die primäre Hämostase gebildete Thrombozyten-Pfropf verschließt vorläufig das verletzte Blutgefäß. Er wird als weißer Thrombus bezeichnet, da in ihm noch keine Erythrozyten verankert sind, und stellt die Grundlage für die Blutgerinnung im engeren Sinn (Koagulation) dar. Ihr Ziel ist ein mechanisch belastbares Blutgerinnsel, das durch ein Fibrinnetzwerk stabilisiert wird. Thrombozytenaggregation und die Ausbildung des Fibrinnetzes laufen parallel zueinander ab, da die sekundäre Gerinnung bereits dann starten kann, wenn die ersten Thrombozyten aktiviert sind.

Die Gerinnungsfaktoren [siehe Tab. 2: *Gerinnungsfaktoren*] sind im Blut zirkulierende Plasmaproteine und zum Großteil Serinproteasen (17). Sie wurden historisch nach dem Zeitpunkt ihrer Entdeckung mit römischen Zahlen nummeriert und sind zusätzlich nach ihrer Funktion oder ihren Erstbeschreiber*innen benannt. Das traditionelle Konzept der plasmatischen Gerinnung betrachtet die Funktionen dieser Proteine rein als Enzyme. Diese sollen sich sequenziell in ihre aktive Form überführen. Freies Plasma- Ca^{2+} wird als wichtigster Kofaktor bei mehreren dieser Reaktionen auch zu den Gerinnungsfaktoren im engeren Sinne dazugezählt. Die Abfolge der Katalysen verstärkt einen potenziell minimalen Stimulus, wie etwa das membranständige Protein Gewebsthromboplastin („tissue factor“; TF), um weitere Schritte zu ermöglichen und zu beschleunigen. Diese stufenweise Aktivierung wird Gerinnungskaskade genannt. Sie bietet weiters die Möglichkeit mehrerer physiologischer und pharmakologischer Eingriffspunkte, um einer normalen oder gar überschießenden Blutgerinnung entgegenzuwirken. Die gemeinsame Endstrecke der Gerinnungskaskade stellt die durch Thrombin katalysierte Reaktion von Fibrinogen zu Fibrin dar (17).

Abkürzung	Eigenname	HWZ	Produktionsort(e)
I	Fibrinogen	96 h	Leber
II	Prothrombin	72 h	Leber (Vitamin-K-abhängig)
III	Tissue factor (TF) = Thrombokinase = Gewebsthromboplastin	-	Fibroblasten, Endothelzellen, Leukozyten (an Zellmembran)
IV	Ionisiertes Ca ²⁺	-	
V	Proakzelerin	20 h	Leber
VI	Nicht zugeordnet		
VII	Proconvertin	5 h	Leber (Vitamin-K-abhängig)
VIII	Antihämophiles Globulin A	12 h	Leber, Megakaryozyten
vWF:Ag	Von-Willebrandt-Faktor = F. VIII-assoziiertes Antigen	16 h	Endothelzellen, Megakaryozyten
IX	Antihämophiles Globulin B = Christmas-Faktor	24 h	Leber (Vitamin-K-abhängig)
X	Stuart-Prower-Faktor	30 h	Leber (Vitamin-K-abhängig)
XI	Plasma-Thromboplastin- Antecedent	48 h	Leber
XII	Hagemann-Faktor	50 h	Leber
XIII	Fibrinstabilisierender Faktor = Laki-Lorand-Faktor	250 h	Leber, Thrombozyten

Tab. 2: Gerinnungsfaktoren

Modifiziert aus: Pape H, Kurtz A, Silbernagl S. Physiologie. 9th ed. Vol. 9. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2019., S. 299

2001 wurde im Journal *Thrombosis and haemostasis* eine neue Theorie der plasmatischen Gerinnung publiziert – das „cell-based model“. Diese nimmt einen nicht-linearen Prozess der Kaskade an, in der hauptsächlich Zellen, primär Thrombozyten, als Quelle von Phosphatidylserin gelten (18).

Das an Zellmembranen regulierte System nimmt Rezeptorproteine als wichtigen Bestandteil der Proteininteraktionen an. Dabei werden drei, sich überlappende, Phasen angenommen:

- Initiation
- Amplifikation
- Propagation

1.1.3.1 Initiation

Als Startpunkt der plasmatischen Gerinnung gilt nach wie vor freiliegender TF. Es wird von epithelial-mesenchymalen Zellen (z.B. Fibroblasten, Myozyten) exprimiert. Bei Durchbrechung der Gefäßintegrität kommt TF in Kontakt mit F. VII und Blutzellen. Dadurch wird ein komplexes Netzwerk an enzymatischen Reaktionen in Gang gesetzt.

F. VII wird durch exponierten TF zu F. VIIa katalysiert. F. VIIa bleibt vor Ort und bildet mit membranständigem TF einen TF/F. VIIa Komplex, der F. IX und F. X in ihre aktiven Formen F. IXa und F. Xa überführt. F. Xa ist nun für die Aktivierung von Prothrombin (F. II) zu Thrombin (F. IIa) zuständig. Die Überführung von F. II zu F. IIa ist anfangs sehr ineffizient, da F. Xa von endothelständigem Antithrombin III (ATIII) und „endothelial derived tissue factor pathway inhibitor“ gehemmt wird. So wird zu Beginn nur eine sehr geringe Menge an Thrombin gebildet, welche jedoch ausreicht, um die nächste Phase einzuleiten (18).

1.1.3.2 Amplifikation

Thrombin führt über mehrere Mechanismen zur Verstärkung des Signals:

1. Die Aktivierung von F. VIII zu F. VIIIa und die Auftrennung des plasmatischen vWF/F.VIII Komplex. Während freies vWF die vorherige Phase der Initiation verstärkt, wird F. VIIIa gemeinsam mit Phospholipiden, Calciumionen und F. IXa zum sogenannten *Tenase-Komplex*. Dieser aktiviert (zusätzlich zum TF/F. VIIa Komplex) F. X zu F. Xa (19).
2. Die Aktivierung von F. V zu F. Va, welcher zusammen mit Phospholipiden, Calciumionen und F. Xa den membranständigen *Prothrombinase-Komplex* bildet. Dieser besitzt eine etwa 300.000-mal höhere, katalytische Funktion als F. Xa um F. II in F. IIa zu überführen (19).
3. Die Aktivierung von F. XI zu F. XIa. An der Membran von aktivierten Thrombozyten kann dieser Vorgang auch ohne F. XIIa ablaufen (20). F. XIIa katalysiert in einer positiven Feedback-Schleife wiederum F. II zu F. IIa (2).
4. Die Stimulation der in Kapitel 1.1.2.3 *Aktivierung und Sekretion* beschriebenen Mechanismen. Diese führen zur Formveränderung der Thrombozyten und damit zur Oberflächenvergrößerung für koagulatorische Prozesse. Eine zentrale Rolle spielt dabei das Lipidmolekül Phosphatidylserin. Dieses befindet sich im Ruhezustand eines Blutplättchens zum Großteil an der zytoplasmatischen Seite der Phospholipidmembran und wird von dem Enzym „Flippase“ daran gehindert an die extrazelluläre Seite zu gelangen. Bei Thrombozytenaktivierung nimmt die Flippase-Aktivität ab, während der Transfer von Phosphatidylserin an die extrazelluläre Seite durch die „Floppase“ beschleunigt wird (21). In-vitro konnten für lösliches Phosphatidylserin Bindungsstellen an F. II, F. Xa und F. Va nachgewiesen werden, die Konformationsänderungen auslösten. Diese resultieren in einer schnelleren Überführung von Prothrombin zu Thrombin (22).

Die Bildung von Thrombin wird durch diese Vorgänge so stark beschleunigt, dass der Anstieg in F. Ila-Konzentration und -Aktivität in der Literatur häufig als Thrombin-Burst bezeichnet wird.

In humanem Plasma können Vesikel nachgewiesen werden, die von Thrombozyten abstammen – sogenannte „platelet-derived extracellular vesicles“ (PEV). Diese werden bei Stimulation durch Chemokine, Apoptose oder erhöhten Scherkräften abgespalten. PEV haben zusätzlich pro- und antikoagulatorische Eigenschaften. Dies scheint durch die unterschiedlichen Subsets an PEV erklärbar zu sein (21,23). Die oben erwähnte Externalisierung von Phosphatidylserin unterstützt die Absonderung von PEV ins Plasma. PEV wird außerdem eine Funktion der Überbringung thrombozytärer Inhalte an Zellen außerhalb des Blutstroms zugeschrieben, welche für die Thrombozyten nicht zugänglich wären. In aktuellen Studien wurden Effekte in Synovialflüssigkeit und Lymphbahnen nachgewiesen, wie auch Hinweise auf immunmodulierende Effekte gefunden (23).

1.1.3.3 Propagation

Der in der Amplifikation gebildete F. XIa begünstigt die Reaktion von F. IX zu F. IXa. Dieser wird in der Bildung des Tenase-Komplexes verwendet. Nach derzeitigem Wissenstand spielt diese Reaktion nach der Amplifikation jedoch eine untergeordnete Rolle, da durch die oben angeführten Reaktionen die Thrombin-Aktivierung voraussichtlich bereits ausreichend verstärkt wird (19).

Der letzte Schritt der plasmatischen Gerinnung ist die durch Thrombin katalysierte Überführung von Fibrinogen (F. I) zu Fibrin (F. Ia).

Fibrinogen und Fibrin

Fibrinogen wird fast zur Gänze in der Leber produziert und hat eine HWZ von 3-5 Tagen, wobei der Metabolismus nicht geklärt ist, da nur etwa 2-3 % des Fibrinogenhaushalts bei gesunden Menschen durch Gerinnung und Fibrinolyse verbraucht werden. Da Fibrinogen auch in Thrombozyten nachgewiesen werden konnte, scheinen Megakaryozyten als weiterer Syntheseort plausibel. Die Struktur von Fibrinogen wird in Regionen unterteilt, die bei der Spaltung durch Plasmin entstehen. Zwei periphere D-Regionen sind durch eine zentrale E-Region verbunden. Insgesamt bilden jeweils zwei $\alpha\alpha$ -, $\beta\beta$ - und γ -Aminosäureketten das Protein, deren N-Termini in der E-Region liegen. Die Enden von $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ werden als

FpA respektive FpB bezeichnet. C-Terminal bilden B β und γ die sogenannte β - bzw. γ -Noduli (auch β - bzw. γ -„Module“) aus, die der D-Region zugeordnet werden. Auf den γ -Noduli befindet sich jeweils eine, für die Polymerisierung essenzielle, a-hole Domäne. Analog dazu findet sich auf β -Noduli eine b-hole Domäne. Die C-terminale A α Peptid wird als α C-Domäne bezeichnet [siehe Abb. 1: Das Fibrinogen Molekül] (24,25).

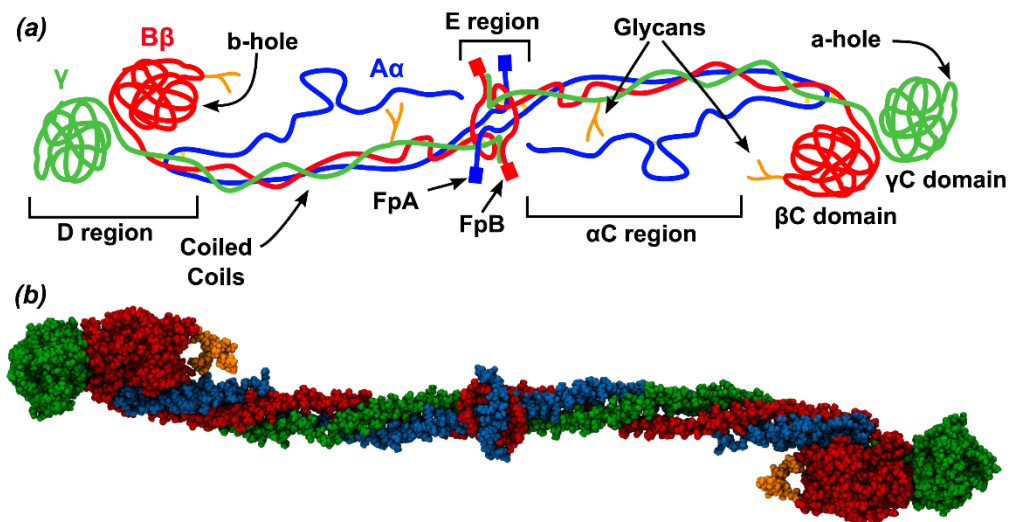


Abb. 1: Das Fibrinogen Molekül

„(a) Schematische Repräsentation des Fibrinogen Moleküls. Die drei Ketten von Fibrinogen A α , B β und γ sind in dieser Reihenfolge in blau, rot und grün dargestellt. (b) Van der Waals Repräsentation der kristallografischen Struktur von Fibrinogen mit derselben Farbgebung wie in (a). Kohlenwasserstoffe sind orange eingefärbt. Die α C-Domäne sowie FpA und FpB Peptide wurden in (b) nicht inkludiert.“ übersetzt ins Deutsche und Abbildung aus: Köhler S, Schmid F, Settanni G. The Internal Dynamics of Fibrinogen and Its Implications for Coagulation and Adsorption. PLoS Comput Biol. 2015;11(9):1–19. DOI:10.1371/journal.pcbi.1004346.g001. Veröffentlicht unter der Creative Commons Attribution Licence (CC BY 4.0).

Die enzymatische Aktivierung von Fibrinogen zu Fibrin geschieht durch die Abspaltung der FpA- und FpB-Domänen durch Thrombin. Die verbleibenden N-Termini der A α -Ketten werden als A-knobs, die der B β -Ketten als B-knobs, bezeichnet. Bei der Polymerisierung von Fibrin tritt jeweils ein A-knob mit einem a-hole eines weiteren Fibrin-Monomers in Verbindung. Dieser Vorgang wird „A-a Knob-Hole-Interaction“ genannt und resultiert in Fibrin-Oligomere. Durch longitudinale Anlagerung von Fibrin-Monomeren entstehen Protofibrillen. Diese bestehen aus etwa 20-25 Monomeren und sind damit 0,6 μ m lang. Durch „B-b Knob-Hole-Interaction“ und der Verbindung von jeweils zwei α C-Domänen kommt es zur lateralen Anlagerung der Protofibrillen. Dadurch entstehen Fibrinstränge, die nicht nur dicker als die vorhergehenden Protofibrillen sind, sondern sich auch zusätzlich verzweigen (24). Einen weiteren Mechanismus der Stabilisierung der Fibrinverbindungen stellt die enzymatische, quervernetzende Aktivität von F. XIIIa dar [siehe Kapitel 1.2.3: Funktionen].

1.2 Faktor XIII

1.2.1 Historischer Hintergrund

Den ersten Hinweis auf die Existenz von F. XIII beschrieb Kenneth C. Robbins im Jahr 1944 im *American Journal of Physiology*. Bei in-vitro-Experimenten mit Fibrin aus Rinderblut bemerkte er die Unlöslichkeit eines Fibrinclots bei Zugabe von Blutplasma. Er folgerte, dass ein damals noch unbekannter Bestandteil im Plasma Fibrin bei Vorhandensein von Ca^{2+} in sogenanntes „Ca-fibrin“ konvertierte (26).

1948 beschrieben zwei ungarische Wissenschaftler im SCIENCE-Journal in einem kurzen Absatz mit dem Titel „On the Solubility of Fibrin Clots“ die Stabilität von Fibrin-Koagel in Abhängigkeit von zwei Faktoren. Dabei wurde entweder in purer Fibrinlösung, in Oxalat-beigemischtem Plasma oder in Kalzium-beigemischtem Plasma die Blutgerinnung abgewartet. Im Anschluss wurde deren Stabilität in 60-prozentiger Harnstoff-Lösung überprüft. Die ersten beiden Gerinnsel lösten sich rasch auf, während sich die in Kalzium-beigemischtem Plasma geformten Koagel als unlöslich erwiesen. Die Autoren folgerten, dass neben Kalzium eine weitere im Serum vorhandene Substanz für die Stabilität von Blutgerinnseln zuständig sein müsse (27).

Die erste klinische Korrelation wurde 1960 in einem Fallbericht von Duckert F., Jung E. und Shmerling D.H. publiziert. Ein siebenjähriger Junge von konsanguinen Eltern wurde aufgrund mehrmaliger Blutungsereignisse (Nabelschnur-Nachblutung zwölf Tage postnatal, oberflächliche Hämatome, trepanationsbedürftiges Subduralhämatom) wiederholt hospitalisiert. Einzigartig war die zunächst intakte Blutungsstillung ohne Komplikationen, die bis zu 24-36 Stunden nach den Traumata anhielt. Danach kam es trotz Druckverbänden und chirurgischer Interventionen zu wiederkehrenden Blutungen, die über Wochen andauerten. Weiters fiel nach dem Sistieren eine verzögerte Wundheilung auf. Die genannten Pathologien wurden auch bei anderen Familienmitgliedern festgestellt. Die damals in der Diagnostik verfügbaren Gerinnungstests und Einzelfaktorenanalysen waren unauffällig, lediglich das Thrombelastogramm war pathologisch verändert. Trotz normaler Fibrinogen-Konzentration und Thrombozytenzahl zeigte sich eine irreguläre Thrombus-Formation und schnelle Abnahme der Clot-Festigkeit. Dies blieb auch nach intravenöser Applikation von 2g ϵ -Aminocapronsäure unverändert, einem

antifibrinolytischen Arzneimittel, das der heutzutage gängigen Tranexamsäure ähnelt. Die Autoren schlossen auf einen Gerinnungsfaktoren-Mangel eines zum damaligen Zeitpunkt nicht genau definierten „fibrin stabilizing factors“, welcher in der späteren Phase der Blutgerinnung eine Rolle spielt. Im weiteren Verlauf besserten sich die Blutungen nach zwei Vollbluttransfusionen. Daraus folgerten die Autoren auf eine Aktivitätszunahme des unbekanntes Faktors. Auf Grund der Konsanguinität und der laborchemischen Analyse des Plasmas von mehreren Familienmitgliedern wurde eine autosomal-rezessive Erbkrankheit vermutet (28).

Loewy et al. gelang es 1961 erstmals diese noch unbekanntes Substanz zu isolieren. Es konnte bewiesen werden, dass es sich bei diesem Molekül um ein Protein, genauer gesagt ein Enzym handelte. Dieses benannten sie aufgrund dieser Erkenntnis „Fibrinase“. Weiters bestätigten sie die Beobachtung von Laki und Lorand aus 1948, dass die Substanz thermolabil sei (29).

Einige Jahre später wurde F. XIII als solcher vom *International Committee on Blood Clotting Factors* benannt.

1.2.2 Biochemie

F. XIII ist ein Zymogen, das in der Anwesenheit von Fibrin bei steigender Konzentration von Thrombin und Ca^{2+} zu seiner aktiven Form F. XIIIa, einer Transglutaminase, hydrolysiert wird [siehe Kapitel 1.2.2.1 *Aktivierung*]. Weiters wurde nachgewiesen, dass auch aktivierter F. X, Trypsin, Thrombocytin und Schlangengifte (Ancrod und Batroxobin marajoensis) F. XIII in F. XIIIa überführen können (30).

Die Struktur des F. XIII ist ein Heterotetramer (F. XIII-A₂B₂) aus jeweils zwei katalytischen Untereinheiten (F. XIII-A) und zwei inhibitorischen Untereinheiten (F. XIII-B). Er liegt sowohl extrazellulär im Blutplasma (pF. XIII), als auch im Zytoplasma (cF. XIII) bestimmter Zellen vor. Die molekulare Masse von F. XIII-A₂B₂ beträgt etwa 320 Kilodalton (kDa). Die nonkovalente Verbindung der Untereinheiten zum eigentlichen Gerinnungsfaktor F. XIII geschieht im Blut, während die intrazelluläre Produktion von F. XIII-A vor allem im Knochenmark und die von F. XIII-B in Hepatozyten stattfindet. Die physiologische Konzentration von pF. XIII wird in der Literatur mit 14-28mg/L bzw. 0,7-1,4 IU/mL angeführt. Die Plasmahalbwertszeit beträgt 9-14 Tage (31,32).

F. XIII-A ist eine als Dimer vorliegende Protransglutaminase. Die Produktion findet primär im Knochenmark statt. Dadurch kann cF. XIII hauptsächlich in den Zellen der Hämatopoese nachgewiesen werden. Verhältnismäßig hohe Konzentrationen wurden in Megakaryozyten und deren Vorläuferzellen sowie in Thrombozyten nachgewiesen. Weiters wurde cF. XIII auch in Monozyten und deren ausdifferenzierten Formen gefunden – dort jedoch als Homodimer F. XIII-A₂. Die in Thrombozyten nachgewiesene Konzentration ist 100 bis 150-mal größer als die Blutplasmakonzentration. Es ist Thrombozyten auch möglich, plasmatisches F. XIII-A₂B₂ aufzunehmen und in α-Granula zu speichern. Verglichen zur zytoplasmatischen Menge an F. XIII-A ist diese jedoch vernachlässigbar klein. F. XIII-A konnte weiters auch in Chondroblasten, Chondrozyten und Osteoblasten nachgewiesen werden (31).

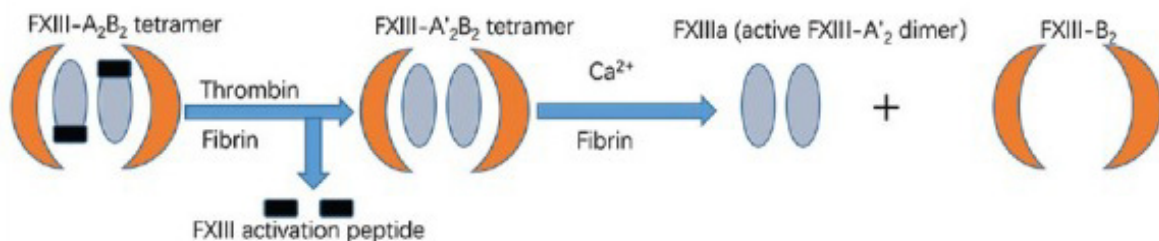
Studien mit Patient*innen nach Knochenmarkstransplantation sowie Patient*innen mit langanhaltender schwerer Thrombozytopenie zeigten überraschenderweise nur geringgradig erniedrigte pF. XIII-Konzentrationen. Dies lässt vermuten, dass auch außerhalb des Knochenmarks Zellen in der Lage sind, F. XIII-A zu produzieren und ins Plasma zu sezernieren. In Hepatozyten konnte F. XIII-A jedoch nur mit hoch sensitiven Messmethoden in geringsten Konzentrationen detektiert werden. Für die Beteiligung von Makrophagen am pF. XIII-Spiegel gibt es keinen Hinweis. Bis dato bleibt der Mechanismus der alternativen, scheinbar ausreichenden F. XIII-Produktion ungeklärt (31).

Das kodierende Gen für F. XIII-A *F13A* erstreckt sich über 160 Kilobasen (kb) und ist auf dem Chromosom 6p24-25 lokalisiert. Transkribiert wird es in eine 3,9 kb mRNA. Diverse Polymorphismen sind bisher bekannt, die in unterschiedlich stark ausgeprägtem kongenitalen F. XIII Mangel resultieren [siehe Kapitel 1.2.4: *Hereditärer Mangel*]. Die drei Ca²⁺-Bindungsstellen (Cab1-Cab3) in der Struktur von F. XIII-A₂ sind, wie bei anderen humanen Transglutaminasen, essenziell bei der Aktivierung des Gerinnungsfaktors (33).

F. XIII-B ist ein Mosaik-Glykoprotein zusammengesetzt aus 10 Sushi-Domänen, jeweils etwa 60 Aminosäuren lang, mit einer gesamten molekularen Masse von etwa 80 kDa. Es wird ausschließlich in Hepatozyten produziert. Das kodierende Gen

F13B liegt auf dem Chromosom 1p31-32.1 und ist circa 28 kb lang. Es resultiert in eine 2,2 kb mRNA (31).

Die Hauptaufgabe von F. XIII-B ist der „Schutz“ und damit einhergehend die Verlängerung der Plasmahalbwertszeit von F. XIII-A. Dies geschieht durch Verhindern der langsamen, progressiven Aktivierung, sowie des proteolytischen Abbaus von F. XIII-A. Die reguläre Aktivierung von F. XIII im Thrombus geschieht durch Thrombin (Aktivatorprotein) bei vorübergehender Komplexierung mit Fibrinogen (Prosubstrat). Bei dieser Reaktion wirkt F. XIII-B beschleunigend, Ebenfalls wurde in-vitro eine beschleunigte Aktivierung von F. XIII-A₂ in Anwesenheit von F. XIII-B nachgewiesen [siehe Abb. 2: *Aktivierung von F. XIII*] (34,35). F. XIII-B wird weiters auch ein regulatorischer Effekt von F. XIIIa zugesprochen, indem es Cab2 okkludiert (31). Etwa 99 % der plasmatischen Gesamtmenge von F. XIII-A₂ liegt zusammen mit F. XIII-B₂ als F. XIII-A₂B₂ vor und nur 1 % als freier Homodimer (36).



a Activation of plasma FXIII

Abb. 2: Aktivierung von F. XIII

Aus: Shi DY, Wang SJ. *Advances of coagulation factor XIII*. *Chin Med J (Engl)*. 2017;130(2):219–23. DOI: 10.4103/0366-6999.198007; Permission to use this figure has been granted by Wolters Kluwer Health, Inc. Die Verwendung dieser Abbildung wurden von Wolters Kluwer Health, Inc. genehmigt.

1.2.2.1 Aktivierung

Um F. XIII in die aktive Form F. XIIIa zu überführen ist die Abspaltung des N-terminalen „activation peptide“ (AP-F. XIII) notwendig, das aus 37 Aminosäuren besteht. Thrombin fungiert dabei als das Aktivatorprotein. Zuerst wird durch Hydrolyse die kovalente Bindung zwischen Arg37 und Gyl38 getrennt. In Anwesenheit von Ca²⁺ beginnt ein sequenzieller Ablauf an den Ca²⁺-Bindungsstellen, welcher aber noch unzureichend erforscht ist. Bei Kontakt von Ca²⁺ mit Cab1 kommt es zu einer Konformationsänderung der F. XIII-A Untereinheit, die einem sich öffnenden Klappmesser ähnelt. Dadurch wird Cab1 verlegt, während Cab2 freigelegt wird. Die Bindung an Cab2 destabilisiert Cab1 und führt vermutlich

zu einer Schwächung der F. XIII-A / F. XIII-B Interaktion. Dadurch könnte Cab3 freigelegt werden. Der womöglich letzte notwendige Schritt zur Abtrennung von F. XIII-B ist die Sättigung der Cab3. (35). Die initiale Abspaltung von AP-F. XIII schwächt die Dimerstruktur des verbleibenden F. XIII-A (35). Eine 2019 erschienene Studie von Singh et al. zeigte im Zuge der Aktivierung die Teilung des Homodimers F. XIII-A₂ in seine beiden aktiven Monomere (F. XIII-A*) (37). Die Anwesenheit von Fibrin beschleunigt die Aktivierung um das etwa 80 bis 100-fache. Begründet wird dies durch eine verbesserte räumliche Anordnung von F. XIII und Thrombin, wodurch eine Proteolyse zwischen Arg37 und Gly38 vereinfacht wird. Sowohl Fibrin I als auch Fibrin II wird diese Eigenschaft zugeschrieben. Eine effektive Aktivierung von pF. XIII findet nur an neu gebildetem Fibrin statt. (31,38).

Auch eine nicht-proteolytische Aktivierung von F. XIII (z.B. intrazellulär, ohne Anwesenheit von Thrombin) ist möglich. Da die zytoplasmatische Ca²⁺-Konzentration jedoch wesentlich niedriger ist als jene im Blutplasma, wird angenommen, dass nur Cab1 besetzt wird. Eine Sättigung der beiden anderen Cab ist bei Ca²⁺-Einstrom in das Zytoplasma denkbar. Die Aktivierung in einem Milieu mit niedriger Ca²⁺-Konzentration wurde nachgewiesen, war jedoch hier nur sehr langsam progressiv (31,39).

1.2.2.2 Inaktivierung & Regulation

Die F. XIIIa-Aktivität sinkt nachgewiesenermaßen innerhalb eines Fibringerinnsels mit einer HWZ von etwa 20 Minuten. Dies lässt darauf schließen, dass plasmatische Vorgänge zur Gegenregulation existieren – diese sind jedoch wesentlich schlechter erforscht also jene der Aktivierung. Da bis dato kein Plasmaprotein als Inhibitor identifiziert werden konnte, wird davon ausgegangen, dass die Proteolyse von F. XIIIa für die Inaktivierung im Vordergrund steht. Plasmin konnte als inaktivierendes Protein ausgeschlossen werden (31,40).

1.2.3 Funktionen

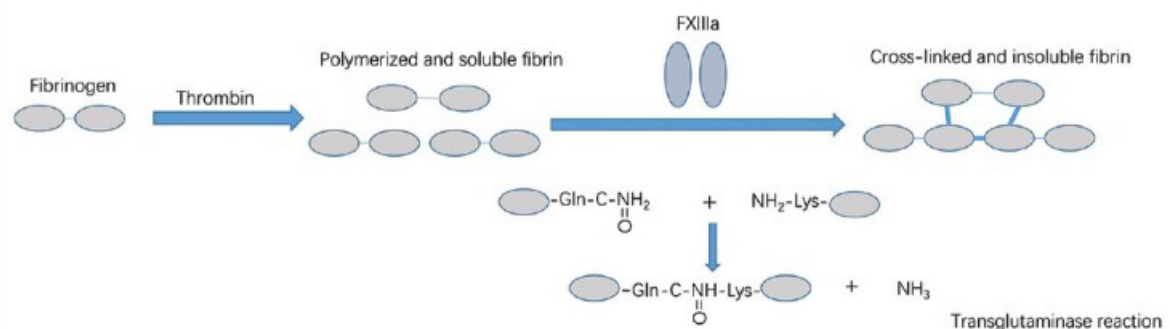
Als Transglutaminase beschleunigt F. XIIIa die Bildung von Protein-Querverbindungen durch eine Acyl-Transfer Reaktion. Diese läuft, wie auch bei anderen Transglutaminasen, in zwei Schritten ab. Zunächst kommt es zu einer Komplexierung des aktiven Zentrums des Enzyms (bei F. XIIIa ist diese an der Stelle Cys 314) mit einem substratständigen Glutamin. Durch die Abspaltung von

Ammoniak entsteht eine Acyl-Enzym-Zwischenstufe. Im zweiten Schritt wird diese Acyl-Gruppe an ein Acyl-Akzeptoramin übertragen und eine Peptidbindung entsteht – die enzymatische Cystein-Stelle wird de-acyliert (31).

Die beiden Hauptsubstrate von F. XIIIa sind Fibrin und Alpha2-Plasmin Inhibitor (α 2-PI). Insgesamt wurden bisher jedoch etwa 140 Substrate identifiziert, darunter Fibronectin und Vitronectin, sowie Plasminogen, Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 2 und der Thrombin-aktivierbare Fibrinolyse-Inhibitor (41).

1.2.3.1 Clot-Stabilisierung

Die Hauptaufgabe von F. XIIIa ist die Stabilisierung eines Fibringerinnsels. Die Verbindungen zwischen Fibrin-Protrofibrillen bleiben bis zur Quervernetzung durch F. XIIIa reversibel. Dies konnte in-vitro experimentell durch Analyse der Aggregationszustände von Fibrinfragmenten und „fluorescence recovery after photobleaching“ nachgewiesen werden (42,43). F. XIIIa verbindet zwei Fibrinmoleküle durch γ - γ -Verbindungen [siehe Abb. 3: *Bildung von Fibrin-Querverbindungen durch F. XIIIa*]. Diese sind kovalente isopeptid ϵ -(γ -Glutamyl)-Lysyl End-zu-End Verbindungen an jeweils zwei C-terminalen Enden (44). Weiters werden Verbindungen zwischen α - und γ -Ketten gebildet, welche jedoch nur zu einer geringen Erhöhung der Steifigkeit beitragen (45).



b Fibrin cross-linking catalyzed by FXIIIa

Abb. 3: *Bildung von Fibrin-Querverbindungen durch F. XIIIa*

AP-FXIII: „activation peptide“; FXIII: Faktor XIII; FXIIIa: Aktivierter Faktor XIII; Gln: Glutamin; Lys: Lysin

Aus: Shi DY, Wang SJ. *Advances of coagulation factor XIII. Chin Med J (Engl)*. 2017;130(2):219–23. DOI: 10.4103/0366-6999.198007; Permission to use this figure has been granted by Wolters Kluwer Health, Inc. Die Verwendung dieser Abbildung wurden von Wolters Kluwer Health, Inc. genehmigt.

In rheologischen Tests wurde ein biphasischer Verlauf der Stabilität von Clots beobachtet. Während der ersten Phase von 10 Minuten, in der sich lose Bündel aus Protrofibrillen bildeten, nahm die Steifigkeit der Fibrin-Protrofibrillen rapide zu. Die darauffolgende Verdichtung erstreckte sich über mehrere Stunden und führte zur

Versteifung der Fibrinstränge und folglich des Thrombus. Diese Phase konnte durch spezifische Hemmung der F. XIIIa-Aktivität zur Gänze verhindert werden (46).

Nach dem Ablauf der Reaktion bleibt etwa 90 % des F. XIII-A₂ an Fibrin gebunden, während F. XIII-B nicht mehr im Thrombus nachgewiesen werden kann. Wie zuvor erwähnt begünstigt die Anwesenheit von Fibrin die Aktivierung von pF. XIII. Sobald jedoch etwa 40 % des zur Verfügung stehenden Fibrins über γ -Ketten quervernetzt wurde, fällt die Geschwindigkeit der Reaktion ab. Dieser Effekt wird als negative Rückkoppelung und Regulationsmechanismus der Clot-Stabilisierung angesehen.

Das „Cross-linking“ schützt den Clot vor proteolytischen Vorgängen und mechanischem Stress. Die Verringerung des proteolytischen Abbaus geschieht über die vermehrte Einlagerung von α 2-PI, dem primären physiologischen Inhibitor von Plasmin. α 2-PI wird in der Leber gebildet. Die Plasmaprotease „Antiplasmin cleaving enzyme“ spaltet 12 Aminosäuren ab, wodurch α 2-PI ein potenzielles Substrat für F. XIIIa wird. Als Transglutaminase katalysiert F. XIIIa die kovalente Verbindung von α 2-PI mit Fibrin α -Ketten und bindet es damit im Thrombus (31).

1.2.3.2 Immunreaktion & Wundheilung

Neben Fibrin sind auch proinflammatorische und membranbindende Proteine des Immunsystems sowie Bestandteile der Extrazellulärmatrix potenzielle Substrate für F. XIIIa, die quervernetzt und dadurch immobilisiert werden können. Fibronectin kann durch F. XIIIa in einen Fibrin-Clot integriert werden. Dies fördert die Anhaftung von Fibroblasten. Außerdem scheint F. XIIIa über den Fibronectin-Rezeptor α _v β ₃-Integrin direkt an Fibroblasten binden zu können. Die Proliferation von Monozyten wird durch die Präsenz von F. XIIIa stimuliert, während deren Apoptose gehemmt wird (47). Weitere Substrate von F. XIIIa, die vermutlich in der Wundheilung eine Rolle spielen, sind unter anderem Kollagen, vWF, Vitronectin, Osteopontin und Thrombospondin (48).

Im Mausmodell mit F. XIII-A-Mangel war die Heilung einer Schnittwunde deutlich verzögert. Nachdem die Verletzung beim Wildtyp nach elf Tagen bereits verschlossen war, zeigte die Gruppe mit F. XIII-Mangel eine abnormale Narbenbildung, inkomplette Epithelialisierung und Nekrosen (49).

Sowohl experimentelle als auch in-vivo-Studien zeigen klare Signale der Beteiligung von F. XIII in der Angiogenese. Durch Abnahme von Thrombospondin-1

mRNA in F. XIIIa exponierten Zellen wird ein wichtiger Hemmstoff der Angiogenese unterbunden (31).

1.2.3.3 Weitere Effekte

F. XIII werden noch einige weitere physiologische und pathophysiologische Eigenschaften zugeschrieben. Dazu zählen beispielsweise die Modifikation der vaskulären Permeabilität, die Beeinflussung von Phagozytoseprozessen bei Monozyten und Makrophagen, die Entwicklung der Extrazellulärmatrix in Knochen und Knorpeln, Einflüsse auf die Differenzierung von Pro-Adipozyten und im Pathomechanismus von Arthritis (31).

1.2.4 Hereditärer Mangel

Nach der Erstbeschreibung eines klinischen Falls im Jahr 1960 mit der Vermutung eines Zusammenhangs mit fibrinstabilisierendem Faktor konnten fast 35 Jahre später die ersten Mutationen nachgewiesen werden (50). Sie werden autosomal-rezessiv vererbt und haben deshalb erhöhte Prävalenz in Kindern konsanguiner Eltern.

Das codierende Gen für F.XIII-A *F13A1* befindet sich am kurzen Arm des 6. Chromosoms (6p24-25). Ein Typ 1 Mangel zeigt eine ausgeprägte Reduktion der plasmatischen F. XIII-Aktivität, plasmatischer F. XIII-A₂B₂-Antigene und F. XIII-A-Antigene, während beim Typ 2 Mangel plasmatische F. XIII-A₂B₂-Antigene und F. XIII-A-Antigen nur geringgradig reduziert sind und hingegen ein funktioneller Defekt besteht [siehe Abb. 4: *Erwartbare F. XIIIa-Aktivität und Antigen-Konzentrationen bei hereditärem und erworbenem F. XIII-Mangel*]. Auch F. XIII-B, dessen Gen *F13B* am kurzen Arm des 1. Chromosoms codiert ist, kann betroffen sein. Weniger als 5 % der beschriebenen kongenitalen F. XIII-Mängel sind auf die Mutationen von zurückzuführen – sie zeigen außerdem ein weniger schweres Erkrankungsbild (51).

Die meistbeschriebene Mutation ist eine G-zu-T Transversion im Exon 2 des F. XIII-A Gen, die einen Val34Leu Polymorphismus zur Folge hat. Dieser erhöht die Rate der F. XIII Aktivierung um etwa das 2,5-fache. Es wird angenommen, dass der Pathomechanismus durch die Nähe zur Abspaltungsstelle von AP-F. XIII durch Thrombin an der Lokalisation Arg37-Gyl38. Die spezifischen Aktivitäten von cF. XIII und pF. XIII der Val34Leu Genotypen sind ident.

Deficiency	Plasma FXIII activity	Plasma FXIII-A ₂ B ₂ antigen	Plasma FXIII-A antigen	Plasma FXIII-B antigen	Platelet FXIII activity	Platelet FXIII-A antigen
Inherited						
FXIII-A deficiency						
Type I	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	> 30%	↓↓↓	↓↓↓
Type II	↓↓↓	↓-N	↓-N	> 30%	↓↓↓	↓-N
FXIII-B deficiency	↓↓	↓↓↓	↓↓	↓↓↓	N	N
Autoantibody against FXIII						
Anti-FXIII-A						
Neutralizing	↓↓↓	↓-N	↓-N	> 30%	N	N
Non-neutralizing	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	> 30%	N	N
Anti-FXIII-B	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓	N	N
Other acquired deficiencies	↓	↓	↓	↓-N	NA	NA

Abb. 4: Erwartbare F. XIIIa-Aktivität und Antigen-Konzentrationen bei hereditärem und erworbenem F. XIII-Mangel

↓↓↓, hochgradig verringerte Aktivität/Konzentration, üblicherweise unter 3 %; ↓↓, beträchtlich reduzierte Aktivität/Konzentration, üblicherweise 5-10 %; ↓, geringgradig verringerte Aktivität/Konzentration, üblicherweise 20-70 %; N, normal; NA, nicht anwendbar.

Aus: Kohler HP, Ichinose A, Seitz R, Ariens RAS, Muszbek L. Diagnosis and classification of factor XIII deficiencies. *J Thromb Haemost.* 2011;9(7):1404–6. Permission to use this figure has been granted by John Wiley and Sons. Die Verwendung dieser Abbildung wurden von John Wiley and Sons genehmigt.

Das Vorkommen von Val34Leu ist ethnisch unterschiedlich verteilt, wobei es bei Ameroindianer*innen sowie Kaukasier*innen am häufigsten nachgewiesen wurde. Weitere wichtige beschriebene Polymorphismen sind Tyr204Phe, Pro564Leu, Glu651Gln und Val650Ile [siehe Abb. 5: Molekülstruktur von F. XIII] (31,52).

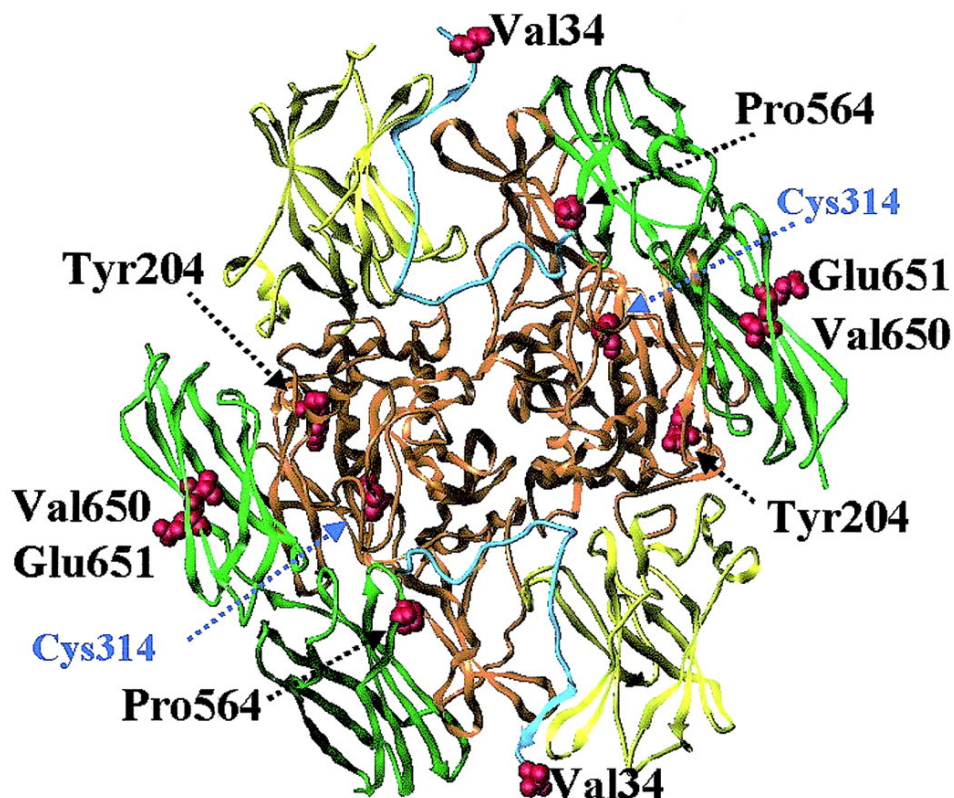


Abb. 5: Molekülstruktur von F. XIII

„Darstellung eines Dimers zweier, rekombinanter F. XIII-A Untereinheiten. Der katalytische Kern wurde orange, β -Sandwich-Domänen gelb, β -Fass-Strukturen grün und das F. XIII-activation peptide cyan eingefärbt. Hervorgehoben sind die aktiven Zentren und die Lokalisationen der fünf häufigsten Gen-Varianten.“ übersetzt ins Deutsche und Abbildung aus: Ariens RAS, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood.* 2002;100(3):743–54. DOI: 10.1182/blood.V100.3.743; Permission to use this figure has been granted by Elsevier. Die Verwendung dieser Abbildung wurden von Elsevier genehmigt.

Die globale Inzidenz des hereditären F. XIII-Mangels wird auf 1 pro 1-3 Millionen geschätzt – Frauen und Männer sind gleichermaßen betroffen (51,53). In Ländern mit einer Häufung konsanguinen Ehen ist die Prävalenz deutlich höher – beispielsweise im Iran liegt sie bei 1 pro 160.000 Einwohner*innen. Die weltweit höchste geschätzte Prävalenz wurde in zwei Provinzen im Südosten Irans mit circa 1 pro 7.700 beschrieben (54).

Klinische Präsentation:

Als häufigste Blutungskomplikationen zeigten sich in einer Analyse einer europäischen Datenbank bei nachgewiesenem F. XIII-Mangel subkutane Blutungen [57 %], verzögerte Nabelschnurblutungen [56 %], Muskelblutungen [49 %], postoperative Nachblutungen [40 %], Gelenksblutungen [36 %] und intrakranielle Blutungen [34 %] (55).

Heterozygote Patient*innen haben in den meisten Fällen eine ausreichende F. XIIIa-Aktivität und sind asymptomatisch, jedoch wurden auch in dieser Population schwere Blutungen dokumentiert (31).

Die Auswirkung des Val34Leu Polymorphismus auf die Stabilität des Blutgerinnsels scheint in Abhängigkeit zur Fibrinogen-Konzentration zu liegen. Bei höheren Fibrinogen-Konzentrationen zeigten die Gerinnsel eine vermehrte Permeabilität und verringerte Stabilität. Dies führte wiederum zu verstärkter Fibrinolyse (56).

Kongenitaler F. XIII-Mangel kann eine Ursache für wiederholte Aborte in ansonsten gesunden Frauen darstellen und ist damit eine der wenigen Gerinnungsstörungen, die zum Verlust der Frucht führen können. Vermutet wird eine Störung in der Bildung der Plazenta, wodurch es zu spontaner Ablösung kommen kann (48).

Es wurde außerdem ein Zusammenhang zwischen dem Val34Leu Polymorphismus und Demenz vom Alzheimer-Typ in der Literatur beschrieben. In einer Fall-Kontroll-Studie zeigte sich ein signifikant gehäuftes Auftreten von Mb. Alzheimer bei Personen mit homozygotem Leu-Allel (57). Als Mechanismus wird die Rolle von F. XIIIa bei der rezeptorvermittelten Endozytose von α_2 -Macroglobulin, der Polymerisierung von β -Amyloid und der Quervernetzung von β -Amyloid mit α_2 -Macroglobulin und seinem Rezeptor vermutet. Weiters konnte das Cross-linking von Fibrin mit β -Amyloid sowie Bildung von β -Amyloid-Oligomeren

durch F. XIIIa in-vitro gezeigt werden – deren klinische Relevanz ist jedoch noch nicht zur Gänze geklärt (58).

Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2007 von Vokó et al. zeigte kardioprotektive Effekte des Val34Leu Phänotyps. Die Odds ratio (OR) der Erkrankung an koronarer Herzkrankheit (KHK) bei Vorliegen eines homozygotem Leu/Leu Genotyps betrug 0,81 und war bei Val/Leu Genotyp 0,82 (59).

Auch die Auswirkung des Val34Leu auf die Inzidenz von venösen Thrombembolien (tiefe Bein-/Beckenvenenthrombose und Pulmonalarterienembolie) wurde in einer Metaanalyse untersucht. Dabei zeigte sich bei Leu/Leu eine OR von 0,75, bei Val/Leu eine OR von 0,86. Daraus lässt sich eine protektive Eigenschaft des mutierten F. XIII gegenüber venösen Thrombembolien ableiten (60).

1.2.5 Erworbener Mangel

Zwei große Entitäten führen zu einem erworbenen F. XIII-Mangel. Zum einen kann es durch Autoantikörper zu einer Hemmung kommen, zum anderen wird F. XIII durch verminderte Synthese oder erhöhten Verbrauch erniedrigt.

1.2.5.1 Immun-mediierter F. XIII-Mangel

Zur Bildung von Autoantikörpern, typischerweise Immunglobulin G, kommt es gehäuft bei rheumatologischen Erkrankungen wie systemischem Lupus erythematodes und rheumatoider Arthritis. Weitere assoziierte Pathologien sind solide Tumore, lymphoproliferative oder myeloproliferative Neoplasien und monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (61). Auch Medikamente unterschiedlichster Gruppen (z.B. Isoniazid, Procainamid, Amiodaron, Metformin, Penicillin, Ciprofloxacin) sind als potenzielle Auslöser beschrieben (62). Bei 47 % der Patient*innen kann jedoch keine zugrundeliegende Erkrankung oder eindeutige Ursache nachgewiesen werden. Die gebildeten Antikörper können gegen eine oder beide F. XIII-Untereinheiten, F. XIII-A und F. XIII-B, gerichtet sein, wobei Antikörper gegen F. XIII-B nur in etwa 7 % ursächlich sind (63).

Aufgrund der hohen Mortalität und der Rate an schweren Blutungen von 18-29 % ist der immun-medierte F. XIII-Mangel eine wichtige, wenn auch seltene Differentialdiagnose. Die F. XIIIa-Aktivität war bei 93 japanischen Patient*innen im

Mittel nur 8,5 %. Dieser Wert liegt unter den bei nicht immun-mediiert typischerweise gemessenen Aktivitätslevels und könnte dadurch einen Hinweis auf die zugrundeliegende Ursache für das behandelnde Personal darstellen (63).

1.2.5.2 Nicht immun-medierter F. XIII-Mangel

Das Auftreten von erworbenem F. XIII-Mangel durch verringerte Bildung oder vermehrten Verbrauch ist deutlich häufiger anzutreffen. Im Gegensatz zum immun-mediierten Mangel liegen die gemessenen F. XIIIa-Aktivitäten meist bei 20-70 % (63). Erhöhter Umsatz von F. XIII ist assoziiert mit großen operativen Eingriffen und schweren Erkrankungen wie z.B. Sepsis, Schlaganfall, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED), schweren GI-Blutungen oder Pulmonalarterienembolien (31).

Kongruent zu den Hauptbildungsstellen der F. XIII-Untereinheiten im Knochenmark und der Leber sind Produktionsdefizite bei hämatologischen und hepatologischen Erkrankungen dokumentiert. In den meisten Fällen von Leberzirrhose bleibt die F. XIIIa-Aktivität im Normbereich, Werte <50 % gehen mit einem erhöhten Risiko für obere gastrointestinale Blutungen einher (64). Im direkten Vergleich von Patient*innen mit vorbekannter Leberzirrhose, ohne oder mit begleitender akuter Nierenschädigung (ANS, „acute kidney injury“) zeigte sich eine signifikant niedrige F. XIIIa-Aktivität bei 38 % vs. 60 %. Die Autor*innen vermuteten, dass dies in Zusammenhang mit der Hypokoagulabilität bei Leberzirrhose mit ANS steht (65).

In einer Studie, in der ein Protokoll zur Erkennung und zum Management von Gerinnungsstörungen bei 39 Patient*innen unter veno-venöser extrakorporaler Membranoxygenierung (VV-ECMO) erforscht wurde, konnte in 88 % der Fälle ein F. XIII-Mangel innerhalb der ersten 7 Tage nachgewiesen werden (66). Hämoptysen, Blutungen aus Katheter/Kanülen-Einstichstellen und Meläna wurden als aktive Blutungskomplikationen unter ECMO bei erworbenem F. XIII-Mangel beschrieben (67).

1.2.6 Therapeutische Ansätze

Goldstandard in der Therapie von hereditärem F. XIII-Mangel ist die direkte Substitution mittels F. XIII-Konzentrat aus gereinigtem (pasteurisiert, nanofiltriert), menschlichem Blutplasma (*Fibrogammin®*; CSL Behring, West Sussex, UK). Die Standarddosierung von 10-40 IU/kg (meist 20 IU/kg) wird alle 4-6 Wochen intravenös verabreicht. Die Häufigkeit von unerwünschten Arzneimittelwirkungen ist mit 1 pro 15.700 Anwendungen gering, eine Infektion durch pathogene Erreger scheint durch die inaktivierenden und entfernenden Prozesse bei der Herstellung unwahrscheinlich (68,69). Eine weitere, neue Behandlungsmöglichkeit stellt eine rekombinante F. XIII-A-Untereinheit (*NovoThirteen / Tretten*; Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) dar. Sowohl aus Plasma isoliertes als auch rekombinantes F. XIII-Konzentrat sind jedoch nur in wenigen Ländern der Welt zugelassen und aufgrund der hohen Kosten vor allem in Entwicklungsländern keine Option (70).

Als Alternativen stehen noch gefrorenes Frischplasma (fresh frozen plasma) und Kryopräzipitat, die 1 IU/mL respektive 3 IU/mL F.XIII enthalten, zur Verfügung. Diese werden zwar noch im angloamerikanischen Raum häufiger eingesetzt, insgesamt jedoch zunehmend vermieden, da diese das Risiko von durch Blut übertragbare Infektionen mit sich tragen. Weitere potenzielle Komplikationen stellen allergische Reaktionen, Zitrat-Intoxikation, transfusionsassoziierte akute Lungeninsuffizienz (TRALI, „transfusion-related lung injury“) und die transfusionsassoziierte Volumenüberladung (TACO, „transfusion-associated cardiac overload“) dar. In einigen europäischen Ländern wurde Kryopräzipitat aus Sicherheitsgründen vom Markt genommen (68).

Um bei hereditärem F. XIII-Mangel schwere Blutungen (Nabelschnurblutung, gastrointestinale und zentralnervöse Blutung, Gelenksblutung/-hämatom) zu verhindern, wurde 2017 von Menegatti et al. eine prophylaktische Ziel-Aktivität von ≥ 15 IU/dL vorgeschlagen (53). Bei aktiver Blutung ist die Halbwertszeit von F. XIII bei hereditärem Mangel erniedrigt, weshalb eine Substitution von 50-150 UI/kg empfohlen ist (38).

Eine weitere Indikation stellt die Abort-Vorbeugung bei schwangeren Patient*innen mit kongenitalem F. XIII-Mangel dar. Hier wurde eine Ziel-Aktivität von ≥ 10 % festgelegt, da geringe pF. XIII-Konzentrationen ausreichen, um eine

Schwangerschaft aufrecht zu erhalten. Während der Geburt sollte eine Mindestaktivität von 30 % angestrebt werden (71).

Aufgrund derzeit unzureichender Evidenz gibt es noch keine etablierten Richtwerte für eine anzustrebende F. XIIIa-Aktivität bei erworbenem Mangel (61). Bei Intensivpatient*innen wurde ein erhöhter Transfusionsbedarf an Erythrozytenkonzentraten bei einer F. XIIIa-Aktivität von <50 % festgestellt (72).

In einer prospektiven Studie mit 24 Patient*innen wurde die topische Anwendung von F. XIII bei chronisch venösen Ulcera mit Placebo verglichen. Ulcera mit einem Durchmesser unter 1 cm zeigten nach zehn Tagen eine signifikante Größenabnahme in der Interventionsgruppe (73).

Im Tiermodell konnte bei traumatisch-hämorrhagischer Schock eine Verringerung von Surrogatparametern des Multiorganversagens durch Therapie mit rekombinantem F. XIII gezeigt werden (74).

1.3 Gerinnungstests

1.3.1 Globalgerinnungstests

Routinemäßig werden zum Screening von Koagulopathien die im klinischen Alltag genannten „Globalgerinnungstests“ (Prothrombinzeit, Quick-Wert, International Normalized Ratio und aktivierter partieller Thromboplastinzeit) angewendet. Sie bilden jedoch die Stabilität eines gebildeten Blutgerinnsel nicht ab. Auch Thrombozytenzahlen sind von einer veränderten Clot-Stabilität nicht betroffen (2). Eine pathologisch veränderte Thrombelastographie (*TEG*®) bzw. Thrombelastometrie („rotational thromboelastometry“; *ROTEM*®) kann jedoch auf eine verringerte F. XIIIa-Aktivität hinweisen. Schon in der Erstpublikation 1960 wurde eine reduzierte maximale Amplitude und vermehrte Lyse beschrieben (28).

1.3.2 Thrombelastometrie

Eine in-vitro Studie untersuchte den Einfluss von gehemmtem F. XIII auf die *ROTEM*®-Parameter. Dafür wurde ein polyklonaler IgG-Antikörper aus Kaninchenseren eingesetzt, der spezifisch die F. XIII-A-Untereinheit hemmt. Die Zugabe der Immunglobuline wurde in unterschiedlichen Verdünnungen getestet. In der Vollblut-Testreihe mit der höchsten Antikörper-Konzentration zeigte sich eine F. XIIIa-Restaktivität von etwa 40 %. Die extrinsische Thrombelastometrie (*EXTEM*)

war aufgrund der verlängerter „clot formation time“ pathologisch verändert. Um eine F. XIIIa-Aktivität ≥ 60 % nachzuweisen, lagen die Sensitivität und der negativ prädiktive Wert bei 100 %, der positiv prädiktive Wert bei 42 %. Außerdem war die mittlere maximale Amplitude („maximum clot firmness“; MCF) in der thrombozytengehemmten Thrombelastometrie (FIBTEM) verglichen mit ungehemmten Vollblutproben signifikant verringert (75).

Im Fallbericht eines männlichen 38-jährigen Patienten mit neu aufgetretener, dekompensierter Lebererkrankung unklarer Genese zeigte sich initial eine Thrombelastometrie mit grenzwertig hoch-normaler „clotting time“ und grenzwertig erniedrigter MCF. Als einziger pathologischer Wert fiel die erhöhte „maximum lysis“ auf, die auch nach Behandlung mit 2 g Tranexamsäure zumindest geringgradig persistierte. Nach Anwendung von 1500 IU Fibrogammin® normalisierte sich das ROTEM® (76).

Die Analyse von 5 Proben von Patient*innen mit F. XIII-Mangel verglich die Validität von TEG® mit Ca^{2+} -Harnstoff- und Essigsäure-Löslichkeitstests. Es zeigte sich eine höhere Sensitivität von TEG® verglichen mit Löslichkeitstests falls die pFXIII-A Konzentration über 20% betrug. Im TEG® waren MCF und die Amplitude nach 60 Minuten waren verringert. Diese Effekte wurden durch Zugabe von Streptokinase in einer „sub threshold concentration“ verstärkt. Dies lässt vermuten, dass TEG® ein besserer Screeningtest für F. XIII-Mangel darstellt als Löslichkeitstests, falls quantitative Tests nicht verfügbar sind (77).

1.3.3 Quantitative Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität

Analog zu den ersten Experimenten von Laki und Lorand im Jahr 1948 wurden lange Zeit Löslichkeitstests mit Harnstoff zur Diagnostik von F. XIII-Mangel verwendet. Problematisch ist, dass das obere Limit der detektierbaren F. XIIIa-Aktivitäten von Löslichkeitstests bei nur < 1 % liegt (51). Daher werden sie von Expert*innen nicht mehr zur Diagnostik von F. XIII-Mangel empfohlen. Als quantitativer Test ist der „Ammonia-release assay“ der am häufigsten angewendete und gilt als Goldstandard. Dabei wird die ammoniakabhängige Reduktion von NADH oder NADPH photometrisch gemessen (77).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität mit eben dieser Methode durchgeführt. Im Kapitel 2.4 *F. XIII Messung* werden die einzelnen Schritte der Reaktion und der labormedizinische Ablauf detailliert erläutert.

2 Material und Methoden

2.1 Forschungsdesign und Population

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse. Dafür wurden alle Patient*innen eingeschlossen, die im Zeitraum von 2014-2019 auf der Allgemeinen Intensivstation der Universitätsklinik für Innere Medizin des Landeskrankenhauses (LKH)-Universitätsklinikum Graz behandelt wurden und bei denen zumindest einmal die F. XIIIa-Aktivität bestimmt wurde.

Ausschlusskriterien waren ein Alter <18 Jahren. Ausgeschlossen wurden auch jene Patient*innen, bei denen die F. XIIIa-Aktivität Bestimmung auf einer anderen Station durchgeführt wurde oder älter als der Tag -1 zur Aufnahme auf die Allgemeine Intensivstation war.

2.2 Definitionen und vordefinierte Subgruppen

2.2.1 Beobachtungszeitraum und F. XIII-Mangel

Die Erstaufnahme einer Patientin oder eines Patienten auf die Allgemeine Intensivstation stellte den Startzeitpunkt für den Fall dar. Die Verlegung von der Intensivstation (meist auf eine Normalstation) markierte das Ende der ICU-Aufenthaltsdauer. Patient*innen, die während eines Krankenhausaufenthaltes mehrmals auf die Allgemeine Intensivstation aufgenommen wurden, wurden als ein Fall gezählt.

Die ICU-Mortalität wurde definiert als das Ableben auf der Intensivstation, während die 28-Tages Mortalität als das Ableben innerhalb von 28 Tagen gerechnet ab der ersten ICU-Aufnahme definiert wurde.

Pro Fall wurde die geringste, vor einer ggf. erfolgten Substitution, gemessene F. XIIIa-Aktivität für die weitere Analyse herangezogen. Bei der Auswertung sequenzieller Messungen der F. XIIIa-Aktivität wurde der Spitzenwert innerhalb von 12 Stunden bis 5 Tagen nach der ersten Substitution verwendet.

Ein F. XIII-Mangel wurde als eine F. XIIIa-Aktivität von <70 % definiert.

2.2.2 Diagnosekategorien

Um Zusammenhänge zwischen bestimmten Krankheitsbildern und einer verringerten F. XIIIa-Aktivität identifizieren zu können, wurden folgende Diagnosekategorien prä-definiert. Die endgültige Kategorisierung der Fälle beruht auf den, von den behandelnden Ärzt*innen dokumentierten, Arbeitsdiagnosen und der Zusammenschau sämtlicher vorliegender Befunde.

- CED (Chronisch entzündliche Darmerkrankung)
- SEPS (Sepsis jeglicher Genese)
- MHG (Maligne hämatologische Grunderkrankung)
- BHG (Benigne hämatologische Grunderkrankung)
- TUM (Sonstige maligne onkologische Erkrankung)
- ZIRR (Leberzirrhose)
- ALF/ACLF (Akutes Leberversagen / Akut auf chronisches Leberversagen)
- Andere

Während der statistischen Auswertung wurde aufgrund der deutlichen Häufigkeit eine weitere Kategorie im Nachhinein (post hoc) definiert.

- GIUE (Gastrointestinales Ulcus/Erosion & sonstige GI-Blutungen)

Falls multiple Diagnosen vorlagen, wurde der Fall in die Kategorie der aus den Dekursdokumenten ersichtlichen, wahrscheinlichsten Hauptdiagnose zugewiesen.

2.2.3 Blutungslokalisierung

Zur weiteren Auswertung von Patient*innen mit klinischen Blutungszeichen wurden die Blutungslokalisationen in folgende Kategorien unterteilt:

- OGI (Obere gastrointestinale Blutung)
- UGI (Untere gastrointestinale Blutung)
- GI (Unspezifizierte gastrointestinale Blutung)
- ES (Blutung aus Einstichstelle/n)
- HNO (Blutung im Hals-Nasen-Ohren-Bereich)
- PULM (Pulmonale/bronchiale Blutung)
- DIC (Disseminierte intravasale Koagulation)
- IA (Intraabdominelle Blutung)
- DERM (Petechien / Hämatome / Ekchymosen)
- Andere

Falls multiple Blutungen vorlagen, wurde der Fall in die Kategorie der aus den Dekursdokumenten ersichtlichen, wahrscheinlichsten Hauptblutungslokalisierung zugewiesen.

2.2.4 Vortestwahrscheinlichkeit und Substitution

Für die geplante Subgruppenanalyse wurden zwei Faktoren kombiniert:

- **F. XIIIa-Aktivität:** normal oder erniedrigt (<70 %)
- **Substitution:** ja oder nein

Dies ergab folgende vier Gruppen:

- Gruppe 1
 - **F. XIIIa-Aktivität:** normal
 - **Substitution:** nein
- Gruppe 2
 - **F. XIIIa-Aktivität:** erniedrigt (<70 %)
 - **Substitution:** nein
- Gruppe 3
 - **F. XIIIa-Aktivität:** erniedrigt (<70 %)
 - **Substitution:** ja
- Gruppe 4
 - **F. XIIIa-Aktivität:** normal
 - **Substitution:** ja

Patient*innen, die bei sequenziellen Messungen erst im Verlauf eine verringerte F. XIIIa-Aktivität entwickelten, wurden Gruppe 2 zugewiesen.

2.3 Erhebung der Daten

Als erster Schritt wurden Fallnummern, dazugehörige Aufnahme- und Entlassungsdaten sowie Laborparameter aller eingeschlossenen Patient*innen vom wissenschaftlichen Servicebereich „Medizinisches Datenmanagement“ des Instituts für Medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation anhand oben definierten Kriterien ausgehoben. In einem zweiten Schritt wurden die jeweilige ICU- und 28-Tages-Mortalität ergänzt. Anschließend wurden die zugehörigen Dekursdokumente der Intensivaufenthalte manuell auf Alter, Geschlecht, Diagnose,

Blutungszeichen, ECMO-Therapie sowie Anzahl und Grund der Substitution gescreent. Weiters wurde aus Krankenakten in Papierform („Fieberkurven“) und aus dem openMEDOCS (Krankenhausinformationssystem der Steiermärkischen Krankenanstaltengesellschaft) Anzahl, Zeitpunkt und Dosierung der Verabreichungen von F. XIII-Konzentrat (*Fibrogammin*®; CSL Behring, West Sussex, UK) oder anderen Substitutionsprodukten erhoben. All diese Informationen wurden in einer pseudonymisierten Liste in Excel 16.0 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) zusammengefasst.

2.4 F. XIII Messung

Die F. XIIIa-Aktivitätswerte wurden im Rahmen des Routinebetriebs bestimmt und retrospektiv im Rahmen dieser Arbeit ausgewertet. Als Proben diente mit Natrium-Zitrat antikoaguliertes, arterielles oder venöses Vollblut. Nach Zentrifugation wurde die quantitative Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität im Blutplasma mittels chromogenem Test (Berichrom® Factor XIII, Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Germany) durchgeführt.

Thrombin wandelt F. XIII in seine aktive Form um, wobei Fibrin diese Reaktion beschleunigt. F. XIIIa verbindet Fibrinpeptide durch eine Acyl-Transfer-Reaktion miteinander. Dabei wird Ammoniak als Abfallprodukt abgespalten. Dieses reagiert in einer parallel ablaufenden, enzymatischen Reaktion mit NADH und α -Ketoglutarat zu NAD und Glutamat. Die Abnahme von NADH wird durch ein Photometer gemessen – dabei ist die Änderung der Absorption der Indikator für die F. XIIIa-Aktivität.

Dieser Test wurde auf dem Atellica® COAG 360 System (Siemens) nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Die Ergebnisse wurden, durch Vergleichen mit einer kalibrierten Referenzkurve für humanes Blutplasma, als prozentueller Anteil des Normwerts angegeben. Das Labor definierte die untere Quantifizierungsgrenze („lower limit of quantification“) bei 15 %, das lineare Intervall reichte bis maximal 150 %.

2.5 Zielgrößen

2.5.1 Hauptzielgröße

Als Hauptzielgröße wurde die Häufigkeit einer Substitutionstherapie in einer Population mit hoher Vortestwahrscheinlichkeit (Intensivpatient*innen mit durchgeführtem Spezial-Gerinnungstest) und die Verteilung der F. XIII-Mangelzustände nach Krankheitsentitäten (CED, Sepsis, maligne hämatologische Grunderkrankung, benigne hämatologische Grunderkrankung, onkologische Erkrankung, Leberzirrhose, ALF/ACLF, Andere) definiert.

2.5.2 Nebenzielgröße

Die vorab definierte Nebenzielgröße war der Vergleich von demographischen Parametern. Weiters wurden die Art der klinisch vorliegenden Blutungen, ICU-Aufenthaltsdauer, ICU- und 28-Tages-Mortalität, die Häufigkeit der Applikation einer Substitution, die Kumulativdosis an Fibrogammin® sowie die darauffolgende Veränderung der F. XIIIa-Aktivität ausgewertet.

2.6 Statistische Auswertung

Alle statistischen Berechnungen wurden in SPSS 26 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA) durchgeführt. Kontinuierliche Variablen wurden als Median [25ste – 75ste Perzentile] zusammengefasst. Kategorische Variablen werden als absolute Häufigkeiten (%) dargestellt. Assoziationen zwischen Variablen wurden, je nach Erfüllung der jeweiligen Voraussetzungen, mit Kreuztabellen, Mann-Whitney-U-Test, χ^2 -Tests und Wilcoxon-Tests berechnet. Das Signifikanzlevel wurde bei 0,05 definiert.

2.7 Ethikvotum

Das Ethikvotum für diese Arbeit wurde vom Institutional Review Board (IRB), der Ethikkommission Graz der Medizinischen Universität Graz (Nr: 32-313 ex 19/20) ausgestellt. Aufgrund der retrospektiven Datenauswertung mit Pseudonymisierung zur Sicherstellung des Datenschutzes und dem Fehlen einer studienbezogenen Intervention war kein Informed Consent notwendig.

3 Ergebnisse

Anhand der angewendeten Suchstrategie wurden insgesamt 89 Patient*innen bei 90 Krankenhausaufenthalten identifiziert, bei denen eine F. XIIIa-Aktivität während eines Intensivaufenthalts in den Jahren 2015-2019 bestimmt wurde. Im Rahmen Aushebung der Unterlagen und der manuellen Dekursdurchsicht zeigte sich eine inkonsistente Dokumentation des Jahres 2014 weswegen dieses Jahr für sämtliche weitere Analysen nicht berücksichtigt wurde.

3.1 Gesamt-Patient*innenkollektiv

Von 90 Aufnahmen fanden sich 42 % Frauen (n=38) und 58 % Männer (n=52). Das mediane Alter war 61 [47-71] Jahre; wobei Frauen 60 [40-71] und Männer 61 [50-72] Jahre alt waren ($p=0,358$) [siehe Abb. 6: Altersverteilung (gesamt)].

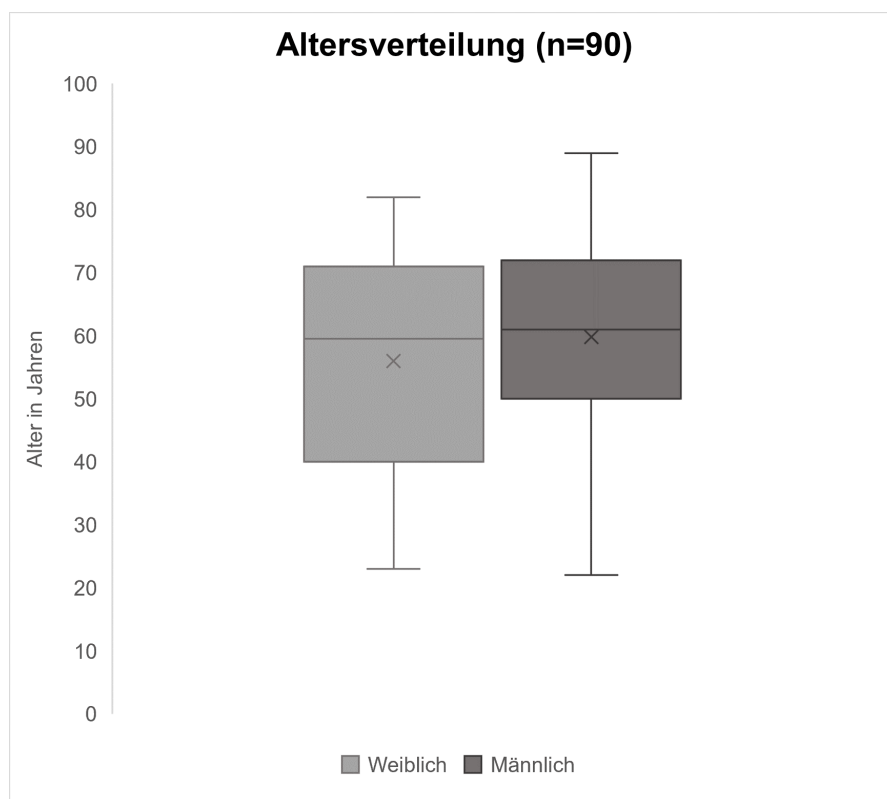


Abb. 6: Altersverteilung (gesamt)

Anhand der in den Methoden beschriebenen Gruppenverteilung (definiert durch F. XIIIa-Aktivität und Substitution) ergaben sich 4 Gruppen [siehe Tab. 3 und Abb. 7: Gruppenverteilung F. XIIIa-Aktivität & Substitution].

Interventionsgruppe	Gesamt (n=90)
F. XIIIa-Aktivität normal & keine Substitution	18 (20,0 %)
F. XIIIa-Aktivität niedrig & keine Substitution	43 (43,8 %)
F. XIIIa-Aktivität niedrig & Substitution	27 (30,0 %)
F. XIIIa-Aktivität normal & Substitution	2 (2,2 %)

Tab. 3: Gruppenverteilung F. XIIIa-Aktivität & Substitution

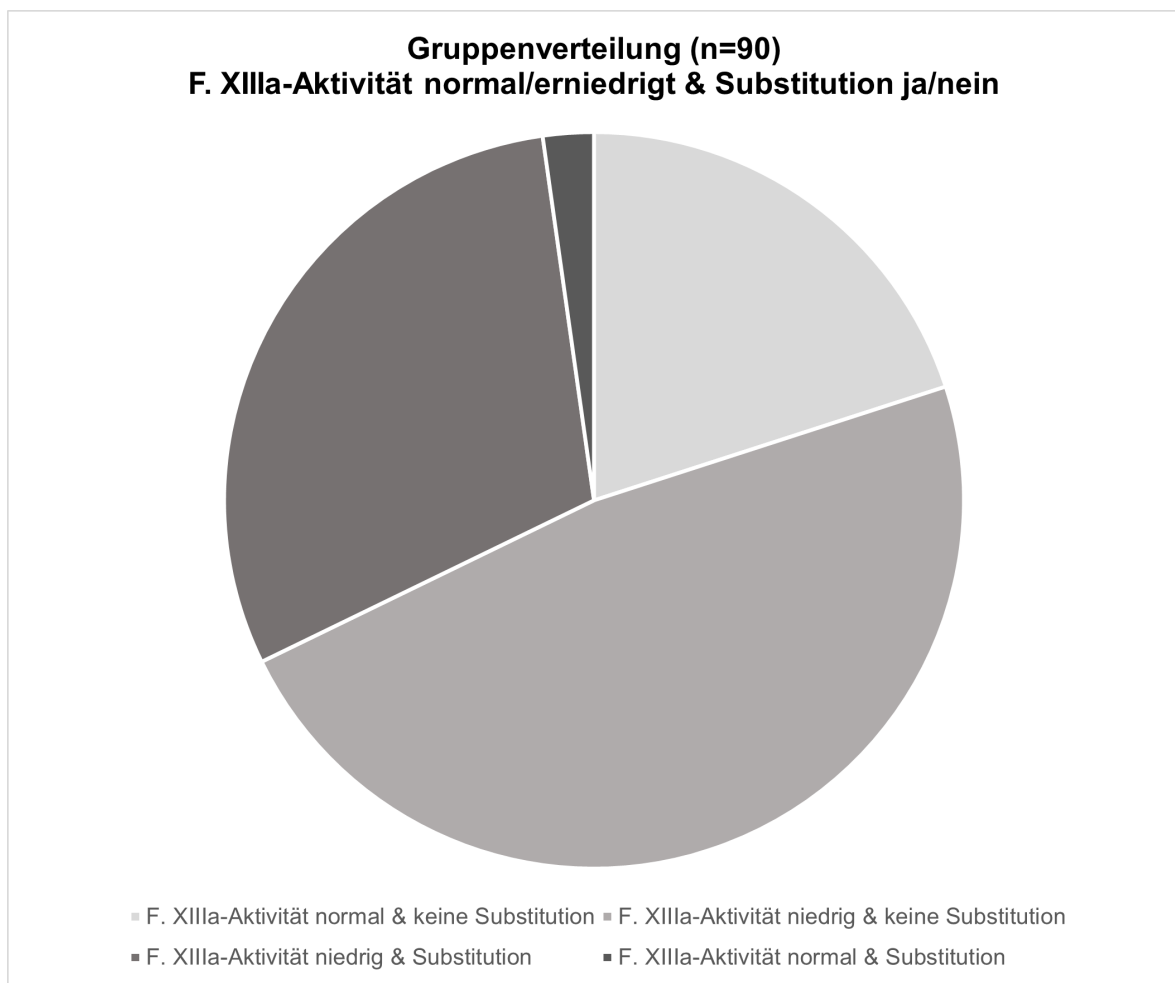


Abb. 7: Gruppenverteilung F. XIIIa-Aktivität & Substitution

3.1.1 Aufenthaltsdauer

Die mediane Aufenthaltsdauer auf der ICU betrug 6 [2-17] Tage, mit einer statistisch nicht signifikant unterschiedlichen Verteilung zwischen Frauen und Männern (5 [2-12] vs. 7 [2-20], $p=0,328$).

3.1.2 F. XIIIa-Aktivität

Es zeigte sich in der Gesamtauswertung eine mediane F. XIIIa-Aktivität von 50 [39-64] %. Die F. XIIIa-Aktivität betrug bei Frauen 43 [38-57] %, während Männer höhere Werte mit 53 [40-71] % zeigten [siehe Abb. 8: *F. XIIIa-Aktivität abhängig vom Geschlecht*]. Dieser Unterschied war nicht signifikant mit einem p-Wert von 0,064.

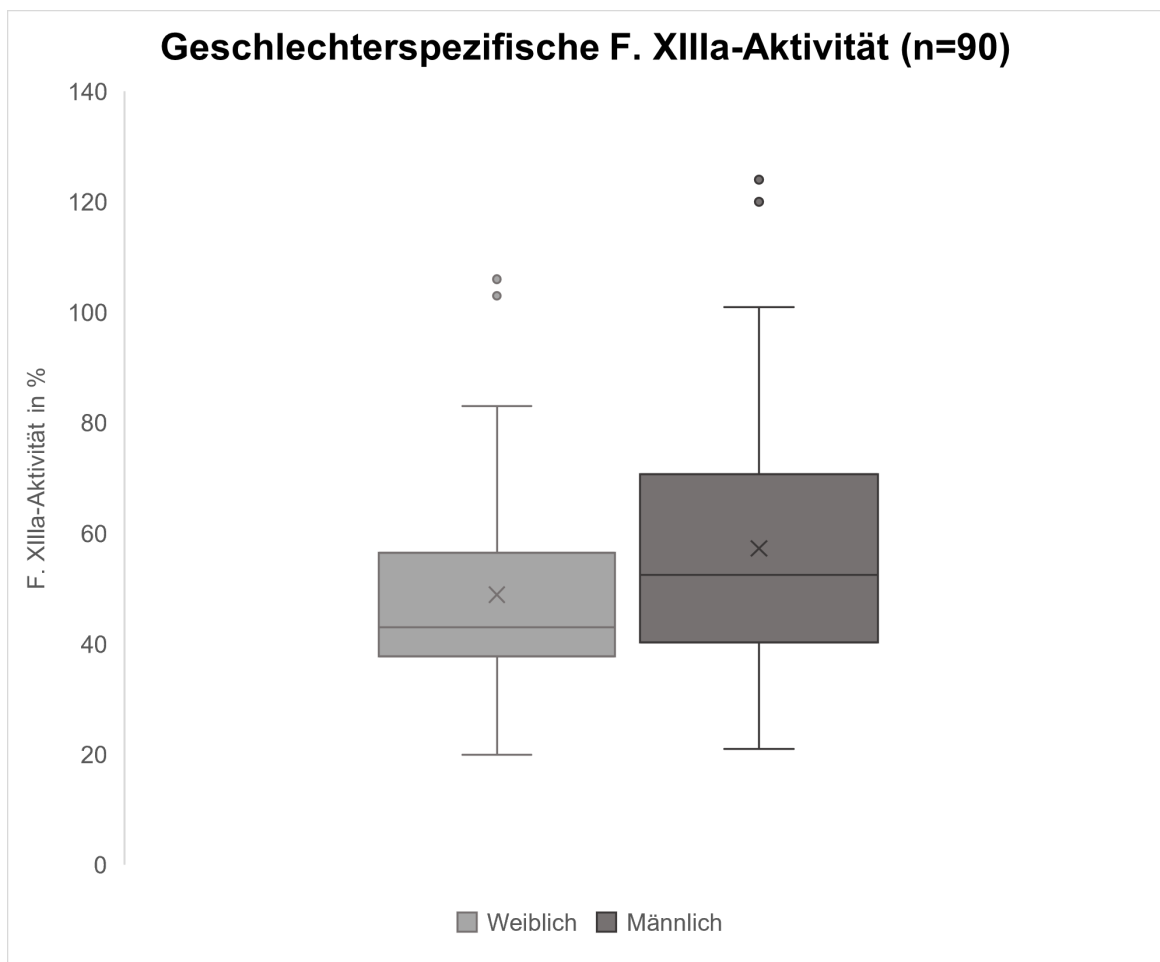


Abb. 8: *F. XIIIa-Aktivität abhängig vom Geschlecht*

3.1.3 Mortalität

Die ICU- und 28-Tages-Mortalität betragen 32 % (n=29) und 34 % (n=31) im gesamten untersuchten Kollektiv. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen.

3.2 Detaillierte Ergebnisse bei erniedrigter F. XIIIa-Aktivität

Insgesamt wurden 70 Fälle mit F. XIII-Mangel (F. XIIIa-Aktivität <70 %) erfasst, wovon 47 % Frauen (n= 33) und 53 % Männer (n= 37) waren.

In 39 % (n=27) wurde eine Substitution mit Fibrogammin® eingeleitet, während 61 % keine Substitution erhielten. Die Geschlechterverteilung zwischen den Gruppen mit und ohne Substitution war nicht signifikant unterschiedlich (p=0,264). Das mediane Alter zwischen den Gruppen mit und ohne Substitution betrug 55 [39-67] und 61 [50-72] Jahre und war statistisch nicht signifikant unterschiedlich (p=0,218).

Die Substitutionsgruppe hatte signifikant niedrigere F. XIIIa-Aktivität als die Nicht-Substitutions-Gruppe (37 [30-43] % vs. 50 [41-59] %, p<0,0001) [siehe Abb. 9: F. XIIIa-Aktivität vor Substitution].

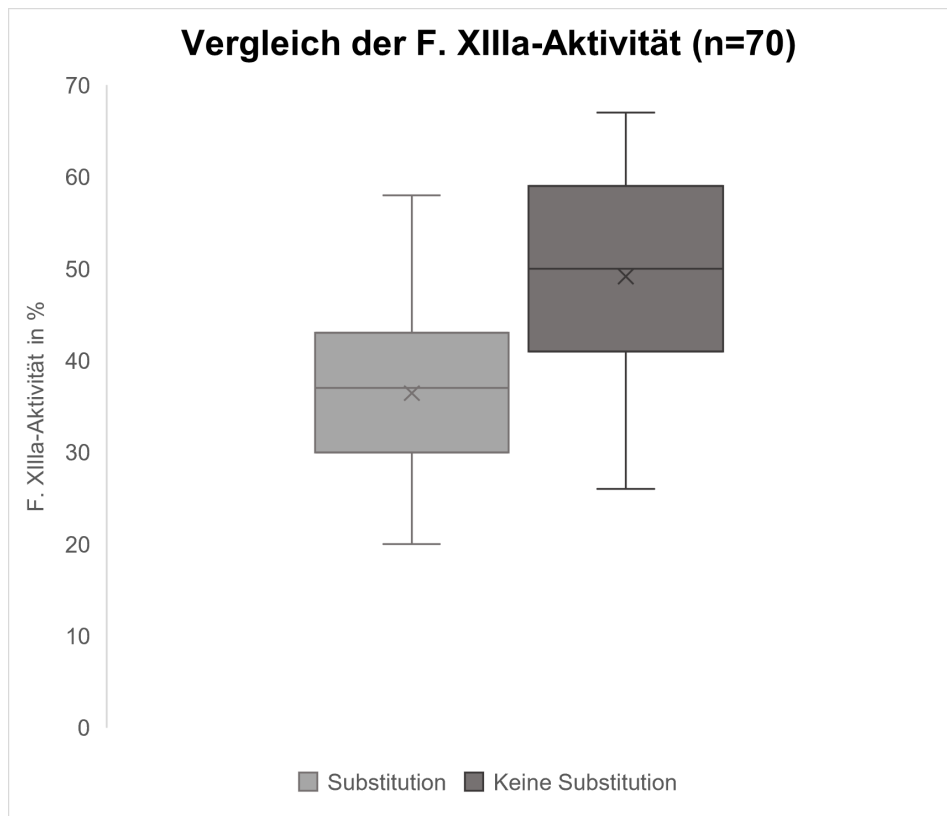


Abb. 9: F. XIIIa-Aktivität vor Substitution

3.2.1 Mortalität

Bei erniedrigter F. XIIIa-Aktivität zeigte sich eine ICU-Mortalität und 28-Tages-Mortalität von 31 % und 31 %.

Die ICU-Mortalität in den Gruppen mit und ohne Substitution war 37 % und 28 % ($p=0,423$), während die 28-Tages-Mortalität 44 % und 23 % betrug ($p=0,063$).

3.2.2 Ursachenforschung

Das Vorkommen einer verringerten F. XIIIa-Aktivität war bei Patient*innen mit gastrointestinalem Ulcus/Erosion bzw. sonstigen GI-Blutungen am häufigsten. Die weiteren Diagnosekriterien und die zugehörigen, beobachteten Häufigkeiten sind als Gesamtanzahl und in Abhängigkeit, ob nach Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität eine Substitutionstherapie eingeleitet wurde oder nicht, in Tab. 4: *Häufigkeiten der Diagnosen bei F. XIII-Mangel* aufgelistet.

Einen wesentlichen Anteil von insgesamt 14 % ($n=10$) stellte die Kategorie „Andere“ dar. Diese beinhaltete kardiale Diagnosen wie akute Herzinsuffizienz, Rhythmusstörungen und akutes Coronarsyndrom, sowie Patient*innen mit Transplantatversagen, Pulmonalarterienembolie, Mb. Wilson und Zustand nach kardiopulmonaler Reanimation oder bei postoperativen Blutungen. Der Großteil dieser Diagnosen waren Einzelfälle im untersuchten Kollektiv dieser Arbeit.

Diagnose	Gesamt (n=70)	Substitution	
		Nein (n=43)	Ja (n=27)
GIUE	17 (24,3 %)	10 (23,3 %)	7 (25,9 %)
SEPS	16 (22,9 %)	11 (25,6 %)	5 (18,5 %)
ZIRR	13 (18,6 %)	7 (16,3 %)	6 (22,2 %)
MHG	6 (8,6 %)	4 (9,3 %)	2 (7,4 %)
BHG	3 (4,3 %)	1 (2,3 %)	2 (7,4 %)
ALF/ACLF	2 (2,9 %)	1 (2,3 %)	1 (3,7 %)
TUM	2 (2,9 %)	1 (2,3 %)	1 (3,7 %)
CED	1 (1,4 %)	0	1 (3,7 %)
Andere	10 (14,3 %)	8 (18,6 %)	2 (7,4 %)

Tab. 4: *Häufigkeiten der Diagnosen bei F. XIII-Mangel*

GIUE: Gastrointestinales Ulcus/Erosion & sonstige GI-Blutungen; SEPS: Sepsis jeglicher Genese; ZIRR: Leberzirrhose; MHG: Maligne hämatologische Grunderkrankung; BHG: Benigne hämatologische Grunderkrankung (hereditärer F. XIII-Mangel, Thrombotisch thrombozytopenische Purpura, Coombs positive autoimmunhämolytische Anämie); ALF/ACLF: Akutes Leberversagen / Akut auf chronisches Leberversagen; TUM: Sonstige maligne onkologische Erkrankung; CED: Chronisch entzündliche Darmerkrankung; Andere (akute Herzinsuffizienz, Rhythmusstörungen, akutes Coronarsyndrom, Transplantatversagen, Pulmonalarterienembolie, Mb. Wilson, Zustand nach CPR, postoperative Blutung). Die Zuordnung zur Diagnose-Gruppe erfolgte jeweils zur Hauptdiagnose, wenn mehrere Diagnosen gleichzeitig vorlagen.

3.2.3 Menge & Anzahl der Substitutionen

Die mediane Menge der Substitution betrug 2500 [1250-2500] IU an F. XIII-Konzentrat Fibrogammin®, das intravenös verabreicht wurde. Die Spannweite der gesamten verabreichten Menge reichte von 500 bis 12500 IU. Andere Präparate oder Produkte wurden nicht verabreicht.

Von den 27 substituierten Patient*innen mit erniedrigter F. XIII-Aktivität erhielten 78 % (n=21) nur eine einzige Gabe an F. XIII-Konzentrat. 11 % benötigten insgesamt 2 Verabreichungen während des Aufenthalts, der Rest verteilte sich auf Personen mit 3 bis zu maximal 10 repetitiven Gaben.

3.2.4 F. XIIIa-Aktivität nach Substitution

Von den 27 Fällen mit Substitution lag in 16 Fällen zumindest eine Kontrollmessung der F. XIIIa-Aktivität innerhalb der nächsten fünf Tage vor. Es zeigte sich bei allen ein signifikanter Anstieg der F. XIIIa-Aktivität ($p < 0,0001$) [siehe Tab. 5 und Abb. 10: *Veränderung der F. XIIIa-Aktivität durch Substitution*].

F. XIIIa-Aktivität in %	
Initiale Messung vor Substitution	Maximum 12h-5d nach Substitution
54	87
48	92
44	64
39	70
38	45
37	95
34	45
33	68
32	51
32	100
30	141
25	47
24	67
22	82
21	56
20	88

Tab. 5: Veränderung der F. XIIIa-Aktivität durch Substitution

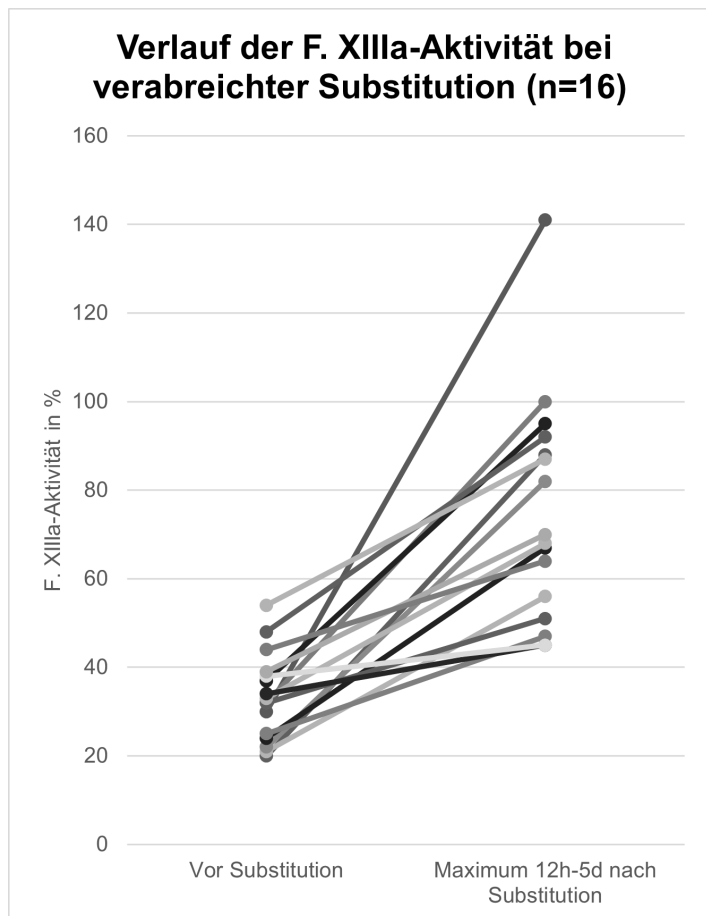


Abb. 10: Veränderung der F. XIIIa-Aktivität durch Substitution

3.3 Detaillierte Ergebnisse zu Blutungen

Patient*innen mit Blutungszeichen waren im Vergleich zu jenen ohne objektivierbare Blutungen sowohl bezogen auf die Geschlechterverteilung (Frauen: 42 % vs. 43 %; $p=0,946$) als auch auf das Alter (61 [48-72] vs. 61 [45-72]; $p=0,864$) nicht signifikant unterschiedlich.

Der überwiegende Anteil der Fälle (77 %, $n=69$), bei denen zumindest einmal die F. XIIIa-Aktivität bestimmt wurde, waren Patient*innen mit klinischen Blutungszeichen. Von diesen 69 Fällen lag in 72,5 % der Fälle eine singuläre Blutung vor. 27,5 % der Patient*innen hatten Blutungen an mehreren Lokalisationen [siehe Abb. 11: *Verteilung der Blutungen*].

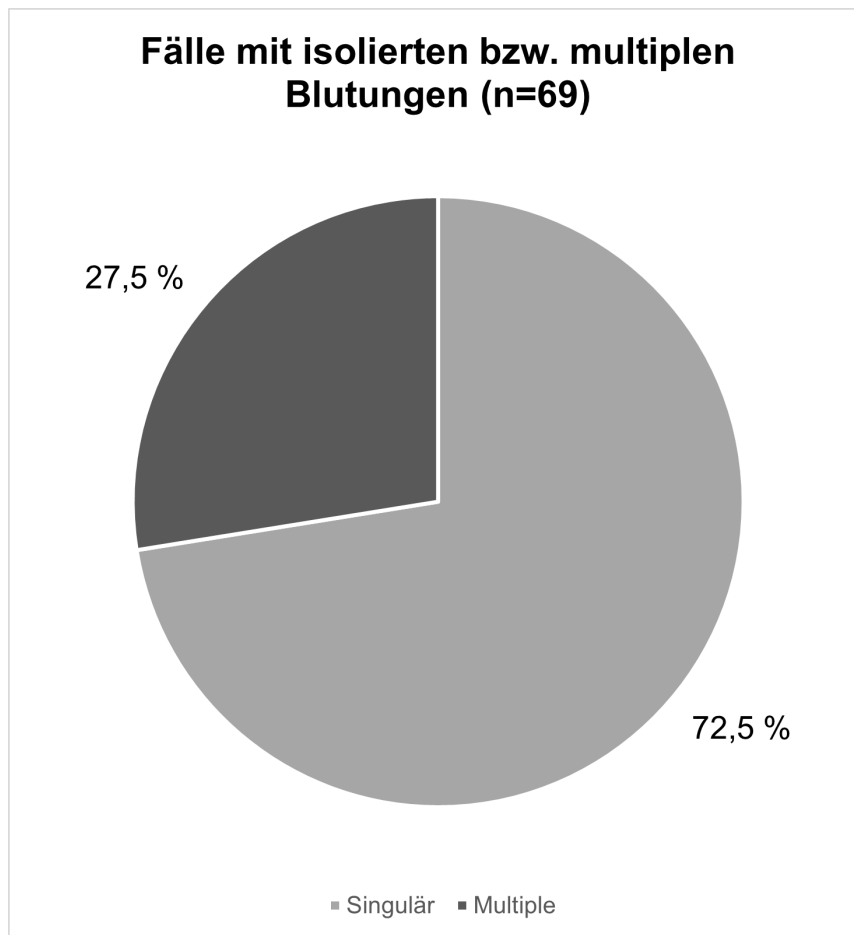


Abb. 11: *Verteilung der Blutungen*

3.3.1 Blutungslokalisationen

Zur weiteren Untersuchung wurde die Verteilung der Blutungsursachen ausgewertet. Den größten Anteil stellten Blutungen im oberen Gastrointestinaltrakt mit 41 % (n=28) dar [siehe Tab. 6 und Abb. 12: Verteilung von singulären und multiplen Blutungen].

Sieben Fälle fielen in die Blutungsklassifikation „Andere“, deren Anteil 10 % betrug. Diese beinhaltet urogenitale, gynäkologische und retroperitoneale Blutungen, Hämatothorax, sowie Blutungen des zentralnervösen Systems.

Fokus	OGI	ES	PULM	DIC	HNO	DERM	UGI	GI	IA	Andere
Gesamt (n=69)	28 (40,6 %)	9 (13,0 %)	5 (7,2 %)	5 (7,2 %)	4 (5,8 %)	3 (4,3 %)	3 (4,3 %)	3 (4,3 %)	2 (2,9 %)	7 (10,1 %)
Singulär (n=50)	23 (46,0 %)	4 (8,0 %)	4 (8,0 %)	5 (10,0 %)	2 (4,0 %)	3 (6,0 %)	3 (6,0 %)	2 (4,0 %)	1 (2,0 %)	3 (6,0 %)
Multiple (n=19)	5 (26,3 %)	5 (26,3 %)	1 (5,3 %)	0	2 (10,5 %)	0	0	1 (5,3 %)	1 (5,3 %)	4 (21,1 %)

Tab. 6: Verteilung von singulären und multiplen Blutungen

Fokusangabe bei Multiplen Blutungen ist die Hauptblutungsquelle; OGI: Obere gastrointestinale Blutung; ES: Blutung aus Einstichstelle/n; PULM: Pulmonale/bronchiale Blutung; DIC: Disseminierte intravasale Koagulation; HNO: Blutung im Hals-Nasen-Ohren-Bereich; DERM: Petechien / Hämatome / Ekchymosen; UGI: Untere gastrointestinale Blutung; GI: Unspezifizierte gastrointestinale Blutung; IA: Intraabdominelle Blutung; Andere (Urogenitale, gynäkologische, retroperitoneale Blutungen, Hämatothorax, ZNS-Blutung)

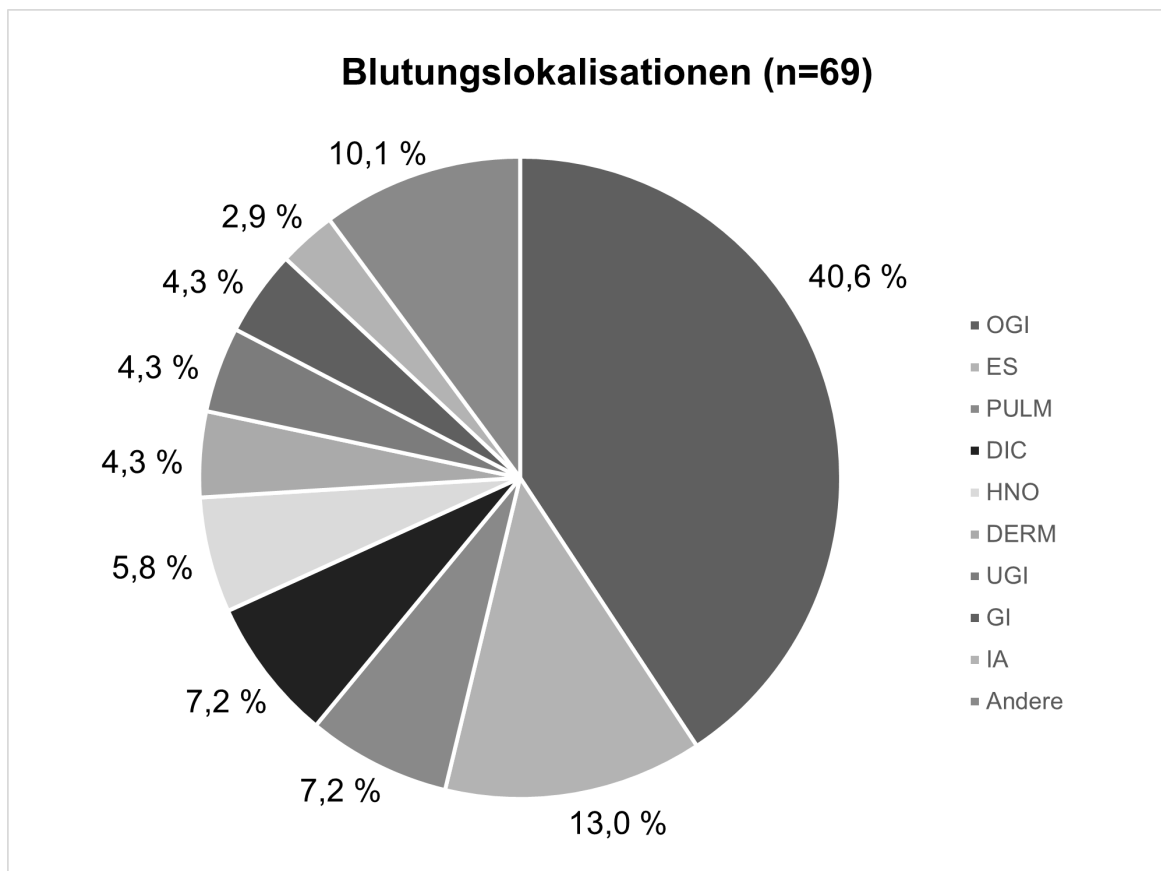


Abb. 12: Verteilung von singulären und multiplen Blutungen

3.3.2 F. XIIIa-Aktivität

Die F. XIIIa-Aktivität war in der Blutungsgruppe mit 48 [38-60] % signifikant niedriger als in der Nicht-Blutungsgruppe bei 60 [45-78] % ($p=0,041$) [siehe Abb. 13: F. XIIIa-Aktivität in Abhängigkeit von Blutungen].

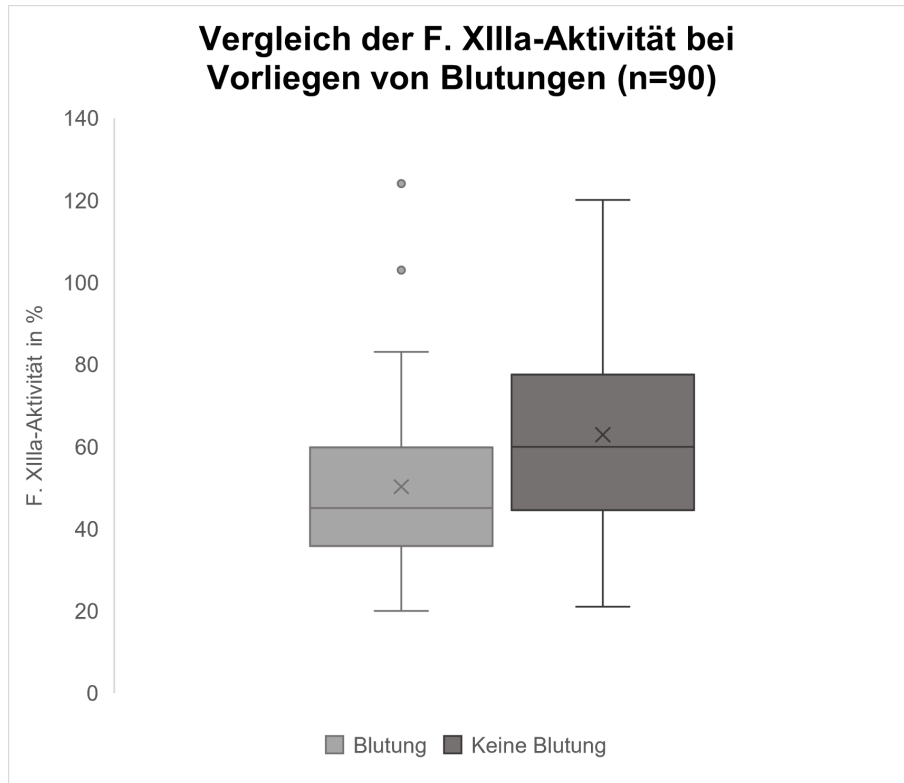


Abb. 13: F. XIIIa-Aktivität in Abhängigkeit von Blutungen

3.3.3 Aufenthaltsdauer

Das Vorliegen einer Blutung beeinflusste den ICU-Aufenthalt nicht signifikant, wobei die Blutungsgruppe im Median 5 [2-16] Tage und die Nicht-Blutungsgruppe 7 [3-27] Tage stationär behandelt wurden ($p=0,632$).

3.3.4 Mortalität

Die ICU-Mortalität bei Patient*innen mit vorliegender klinischer Blutung betrug 29 %, während jene Patient*innen ohne Blutung mit 43 % eine nicht signifikant unterschiedliche Mortalität hatten ($p=0,234$). Bezogen auf die 28-Tages Mortalität zeigte sich mit 33 % in der Blutungsgruppe und 38 % in der Nicht-Blutungsgruppe kein signifikanter Unterschied ($p=0,688$).

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurden insgesamt 90 Aufenthalte von 89 Patient*innen der Allgemeinen Intensivstation der Universitätsklinik für Innere Medizin am LKH-Universitätsklinikum Graz retrospektiv ausgewertet. Die folgende Diskussion soll zur Interpretation der Ergebnisse im Kontext des derzeitigen Stands der Literatur dienen.

4.1 F. XIIIa-Aktivität

In einer Analyse von 39 Fällen mit erworbenem F. XIII-Mangel (38 % nicht-chirurgische Patient*innen) lag die mittlere gemessene F. XIIIa-Aktivität bei 44 ± 16 % (78). Die mediane F. XIIIa-Aktivität des vorliegenden Patient*innenkollektivs ähnelt mit 50 [39-64] % dieser Beobachtung.

4.2 Indikation der Substitution

Bei Patient*innen mit erworbenem F. XIII-Mangel liegt die F. XIIIa-Aktivität meist zwischen 20 und 70 %, wenn die Ursache nicht auf Antikörper zurückzuführen ist (51). In dieser Arbeit wurde daher ein Cut-off von <70 % für die Definition eines F. XIII-Mangels gewählt. Bis dato gibt es bei nicht-chirurgischen Patient*innen noch keinen klaren Schwellenwert, ab dem eine Therapie im Sinne einer Substitution einzuleiten ist. Die ESAIC-Leitlinie empfiehlt bei Patient*innen mit perioperativen Blutungen die Substitution von F. XIII bei Vorliegen einer aktiven Blutung gepaart mit einer F. XIIIa-Aktivität von <30 % (79). Aus dem Mangel an Daten in der Population von nicht-chirurgischen Patient*innen resultiert in diesem Kollektiv ein heterogenes Vorgehen in Bezug auf die F. XIII-Substitution im klinischen Alltag, was sich auch in den hier vorliegenden Daten widerspiegelt.

Während bei insgesamt 70 von 90 ausgewerteten Krankenhausaufenthalten ein erworbener F. XIII-Mangel festgestellt wurde, resultierte dies nur in 39 % der Fälle in einer Substitution mit F. XIII-Konzentrat. Die Substitutionsgruppe zeigte zuvor eine niedrigere mediane F. XIIIa-Aktivität von 37 % [30-43], während sie bei Patient*innen die nicht substituiert wurden bei 50 % [41-59] lag. Dieser Unterschied war hoch-signifikant mit einem p-Wert von <0,0001. Hier zeigt sich eindeutig eine Tendenz der liberaleren Indikationsstellung einer Substitution bei stark erniedrigten

Werten. Sie scheint jedoch trotzdem nicht isoliert am absoluten Wert der F. XIIIa-Aktivität festgemacht zu sein, als vielmehr im gesamten klinischen Kontext mit Blutungszeichen, Laborparametern, Begleiterkrankungen und vor allem auch der individuellen Prognose gesehen zu werden.

4.3 Dosierung der Substitution

Bei der Auswertung der Daten wurde ersichtlich, dass die Dosierung und Anwendung von F. XIII-Konzentrat häufig einem pragmatischen Zugang folgen. Fibrogammin® ist als 250 IU und als 1250 IU Präparat erhältlich. Die vorliegende Dokumentation lässt darauf schließen, dass das 1250 IU-Präparat oder ein Vielfaches dieser Menge als Standarddosierung appliziert wurden. Weiters geht hervor, dass, falls die Kontrollmessung für das behandelnde ärztliche Personal keine ausreichende bzw. zufriedenstellende klinische oder laborchemische Veränderung herbeiführte, die Fibrogammin®-Gaben meist in diesen Startdosierungen wiederholt wurden.

Diese Vorgehensweise steht im Kontrast zu der Anwendung von F. XIII-Konzentrat bei hereditärem F. XIII-Mangel zur Blutungsprophylaxe. Dabei wird die Dosierung in Abständen von 4-6 Wochen und adaptiert an das Körpergewicht empfohlen (41,69). Zu bedenken ist jedoch, dass diese Patient*innen meist kurz nach der Geburt oder im frühen Kindesalter mit schweren Blutungskomplikationen vorstellig werden. Die Prophylaxe beginnt daher häufig schon vor dem Erwachsenenalter und muss anders bzw. streng körperlsgewichts-bezogen dosiert werden. Die regelmäßige Laborkontrolle ist beim Management des angeborenen F. XIII-Mangel empfohlen – die Fibrogammin®-Fachinformation beschreibt eine Ziel-Aktivität von 5-20 % (69). Als Zielgröße der Substitution wird auch die adäquate Hämostase beschrieben, wobei eine F. XIIIa-Aktivität über 10% notwendig sein kann (61). Ein 2017 publizierte Studie von Menegatti et al. schloss auf eine Konzentration von zumindest 15 UI/mL, um schwere Blutungskomplikationen vorzubeugen (53).

Die Fachinformation von Fibrogammin® empfiehlt bei hereditärem Mangel eine initiale Dosis von 40 IU/kg, mit 4-wöchiger Kontrolle und ggf. Adaptation um ± 5 IU/kg je nach F. XIIIa-Aktivität. Bei erworbenem F. XIII-Mangel ist eine Dosierung von mindestens 15-20 IU/kg pro Tag bis zur Besserung der klinischen Symptome

angeführt. In jedem Fall ist eine Infusionsgeschwindigkeit von maximal 4 mL/min einzuhalten (69).

4.4 Mortalität

International wird die Gesamtmortalität auf medizinischen Intensivstationen mit 31-52% beschrieben (80,81). In einer vergleichenden Studie von zwei Publikationen aus 2002 (ICON; n=3147) und 2012 (SOAP, n=4852) von medizinischen und chirurgischen Patient*innen europäischer Intensivstationen zeigte sich eine ICU-Mortalität von 18,5 % respektive 16,8 % (82). Die in der vorliegenden Arbeit beobachtete ICU-Mortalität des gesamten Kollektivs betrug 32%.

Ein Review von Fallberichten (n=55; 67 % nicht-chirurgische Patient*innen) mit erworbenem immun-mediertem F. XIII-Mangel zeigte eine Mortalität von 24 % (62). Eine rezente Studie von Duque et al. verzeichnete bei Patient*innen mit erworbenem F. XIII-Mangel eine Krankenhausmortalität von 38 % (78).

In der vorliegenden Subgruppe mit F. XIII-Mangel lag ICU-Mortalität bei 31%. Verglichen mit der Gesamtmortalität europäischer Intensivstationen ist dies knapp doppelt so hoch (82). Dies könnte durch schwerere Krankheitsverläufe in der Population, bei denen F. XIIIa-Aktivitäten bestimmt werden, erklärbar sein und spiegelt nicht die Mortalität der gesamten ICU-Population wider. Weiters wurden in oben genannten Studien auch chirurgische Patient*innen eingeschlossen, welche, verglichen mit internistischen Patient*innen, generell eine niedrigere ICU-Mortalität aufweisen. Sowohl die ICU-Mortalität als auch die 28-Tages-Mortalität wurden durch eine Substitution von F. XIII-Konzentrat bei vorliegendem F. XIII-Mangel nicht signifikant beeinflusst.

Die 28-Tages-Mortalität von nicht-Substitutionsgruppe und Substitutionsgruppe betrug 23 % und 44 % ($p=0,063$) und war damit grenzwertig nicht signifikant. Es ist anzunehmen, dass die Stichprobengröße dieser Arbeit zu gering war, um hier das Signifikanzniveau zu erreichen. Die numerisch höhere Mortalität in der Substitutionsgruppe ist jedoch in erster Linie auf die zu Grunde liegende Erkrankung, das niedrigere F. XIII-Niveau und auf die Erkrankungsschwere zurückzuführen und nicht auf die Substitution *per se*.

4.5 Ursachen des F. XIII-Mangels

Die drei häufigsten Diagnosen (bestätigtes GI-Ulcus/Erosion bzw. sonstige GI-Blutung; Sepsis; Leberzirrhose) lagen in zwei Drittel aller Fälle mit verringerter F. XIIIa-Aktivität vor. Gastrointestinale Blutungen als Ursache eines F. XIII-Mangels sind in der Literatur nur selten angeführt, meist im Kontext von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (63,83–85). In der hier vorliegenden Auswertung wurde nur ein Patient mit einem akuten Mb. Crohn-Schub erfasst. Zeerleder et al. beschrieben signifikant reduzierte F. XIIIa-Aktivitäten bei Patient*innen mit schwerer Sepsis (86). Weiters wurde ein F. XIII-Mangel in unterschiedlichen Lebererkrankungen beschrieben (87,88).

4.6 Blutungen bei F. XIII-Mangel

Bei Vorliegen von klinischen Blutungszeichen war die F. XIIIa-Aktivität signifikant niedriger als beim Fehlen von Blutungen (48 [38-60] % vs. 60 [45-78] %; $p=0,041$). Die klinische Beobachtung scheint damit ein wichtiger Hinweis für die Einleitung einer weiterführenden, spezifischen Diagnostik (z.B. ROTEM®/TEG® oder Einzelfaktorenbestimmung) für das behandelnde Personal zu sein. Es kann jedoch bei Vorliegen von Blutungen nicht generalisiert auf eine verringerte F. XIIIa-Aktivität von Patient*innen auf internistischen Intensivstationen geschlossen werden, da die Daten nicht mit einer Kontrollgruppe verglichen wurden. In einer retrospektiven Analyse von chirurgischen ICU-Patient*innen mit erworbenem F. XIII-Mangel zeigte sich ein vermehrter Transfusionsbedarf an Erythrozytenkonzentraten bei Patient*innen einer F. XIIIa-Aktivität <50 % (72).

Die Häufigkeit des Auftretens von schweren Blutungen bei Patient*innen unter ECMO-Therapie liegt bei 50-60 % (89). In einer prospektiven Analyse aus dem Jahr 2015 zur Evaluierung eines Gerinnungsmanagement-Protokolls für ECMO-Patient*innen von Kalbhenn et al. entwickelten 88 % der 39 Fälle einen F. XIII-Mangel innerhalb der ersten sieben Tage nach Beginn der ECMO-Therapie (66).

In einem Fallbericht von zwei Patient*innen beschrieben Ito et al. Hämoptysen, Blutungen aus Kanülen-Einstichstellen und Meläna als Blutungskomplikationen bei erworbenem F. XIII-Mangel unter ECMO-Therapie (67). In der Auswertung unserer

Daten ließ sich dies bestätigen. Es zeigten sich häufig Blutungen an den Einstichstellen zentralvenöser Katheter und ECMO-Kanülen (71 %), sowie Blutungen im Oropharynx-Bereich (43 %). Ein ECMO-Patient mit multiplen Blutungslokalisationen (Einstichstellen, HNO-Bereich) präsentierte außerdem eine Makrohämaturie.

4.7 Limitationen

Die offensichtlichsten Limitationen dieser Arbeit ergeben sich aus der kleinen Population von 90 Fällen, dem retrospektiven Charakter sowie dem Vorliegen der Daten von nur einer einzigen Intensivstation.

Während der Durchsicht der vorliegenden Dokumentation und der nachfolgenden Interpretation der Ergebnisse wurden außerdem folgende Limitationen apparent:

1. Bei einem Großteil der Patient*innen wurden neben der Substitution von F. XIII-Konzentrat mehrere Interventionen zur Behandlung von Blutungen angewendet. Diese beinhalteten beispielsweise die Gabe von Tranexamsäure, Fibrinogen, chirurgische [Umstechung einer Einstichstelle] oder endoskopische Maßnahmen und Lokalthherapie, wie manuelle Kompression oder die Anwendung von mit Adrenalin getränkten Wundauflagen. Dadurch wird die genaue Abgrenzung des Einflusses von F. XIII-Konzentrat erschwert. Die vorliegende Arbeit repräsentiert jedoch das Vorgehen im klinischen Alltag, da häufig Maßnahmen zur Blutungsstillung miteinander kombiniert werden.
2. Aufgrund der Therapieentscheidungen des behandelnden ärztlichen Personals wurde in dieser Arbeit lediglich die Substitution mit dem F. XIII-Konzentrat Fibrogammin® ausgewertet. Dadurch war es nicht möglich, die Effekte unterschiedlicher F. XIII Substitutionen (FFP, rekombinanter F. XIII, etc.) zu zeigen oder zu vergleichen, jedoch konnte die Wirksamkeit von Fibrogammin® spezifisch untersucht werden.

3. Für die statistische Auswertung wurde für Kontrollmessungen der F. XIIIa-Aktivität ein Zeitraum zwischen 12 Stunden und 5 Tagen nach erfolgter Substitution gewählt. Aufgrund der individuellen Kinetik (z.B. abhängig von der Ursache des Mangels) ist bis heute kein optimaler Zeitpunkt für Kontrollmessungen bekannt oder empfohlen. In den Daten dieser Arbeit konnte jedoch im Großteil der Fälle ein Anstieg der F. XIIIa-Aktivität innerhalb von 24h nach Substitution verzeichnet werden.
4. Die Dokumentation von Blutungen und deren Verlauf (zeitlicher Beginn, Stärke, Transfusionsbedarf, Veränderung durch Maßnahmen) war teilweise unvollständig. Dies erschwerte die Einschätzung des spezifischen Effekts einer F. XIII-Substitution. Ein prospektives Studiendesign mit standardisierter Blutungsdokumentation könnte dabei interessante Einblicke ermöglichen.

5 Ausblick

Die Diagnostik rund um F. XIII ist nach wie vor eine Nische in der inneren Medizin – beim Management spontaner und/oder unstillbarer (Sicker-) Blutungen hat dieser Gerinnungsfaktor jedoch einen relevanten Stellenwert. Durch einschlägige Fortbildungen könnte die Aufmerksamkeit vermehrt auf spezielle Gerinnungsdiagnostik, wie ROTEM® und TEG®, sowie auf die Bestimmung von Einzelfaktoren, inklusive F. XIII, gelenkt werden. Während F. XIII in der postoperativen Betreuung regelmäßig bestimmt und substituiert wird, bleibt sein Stellenwert in der internistischen Intensivmedizin unklar. Prospektiven Studien, bestenfalls auch mit Bestimmung der Konzentrationen von F. XIII-Untereinheiten, könnten interessante Einblicke in Unterschiede bei Dosierung und den Einfluss einer Substitution auf die Reduktion von Blutungsereignissen bringen. Weiters ist die Datenlage zu (regelmäßiger) Bestimmung der F. XIIIa-Aktivität bei ECMO-Patient*innen noch spärlich und bildet einen möglichen Ansatzpunkt für zukünftige Forschung.

6 Conclusio

In dieser retrospektiven Datenanalyse von insgesamt 90 Fällen, die auf der medizinischen Intensivstation des LKH-Universitätsklinikum Graz in einem Zeitraum von 5 Jahren betreut wurden, konnte ein Überblick über die häufigsten Ursachen eines F. XIII-Mangels dieses Patientenkollektivs erstellt werden. Bei Vorliegen eines F. XIII-Mangels konnte ein signifikanter Anstieg der F. XIII-Aktivität durch eine Substitution mit Fibrogammin® verzeichnet werden. Eine größere Kohorte, multizentrisches Studiendesign, eine standardisierte Substitution sowie Dokumentation einzelner Blutungsereignisse und deren Verlauf könnten bei der Erforschung weiterer, patient*innen-zentrierter Endpunkte eine zentrale Rolle einnehmen.

7 Literaturverzeichnis

1. Petros S, Engelmann L. Die Hämostase in der Intensivmedizin. *Medizinische Klin - Intensivmed und Notfallmedizin*. 106(3):164–5. DOI:10.1007/s00063-011-0012-y
2. Pötzsch B, Madlener K. *Hämostaseologie: Grundlagen, Diagnostik und Therapie*. Heidelberg: Springer Berlin; 972 p.
3. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (Guyton Physiology)*. Philadelphia: Elsevier; 1097 p.
4. Periyah MH, Halim AS, Saad AZM. Mechanism action of platelets and crucial blood coagulation pathways in Hemostasis. *Int J Hematol Stem Cell Res*. 11(4):319–27.
5. Farndale RW, Sixma JJ, Barnes MJ, De Groot PG. The role of collagen in thrombosis and hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2(4):561–73. DOI:10.1111/j.1538-7836.2004.00665.x
6. Peyvandi F, Garagiola I, Baronciani L. Role of von Willebrand factor in the haemostasis. *Blood Transfus*. 9(Supp. 2):3–8. DOI:10.2450/2011.002S
7. Wise RJ, Dorner AJ, Krane M, Pittman DD, Kaufman RJ. The role of von Willebrand factor multimers and propeptide cleavage in binding and stabilization of factor VIII. *J Biol Chem*. 266(32):21948–55. DOI:10.1016/s0021-9258(18)54729-3
8. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. *Physiologie des Menschen*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 979 p.
9. Broos K, Feys HB, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Platelets at work in primary hemostasis. *Blood Rev*. 25(4):155–67. DOI:10.1016/j.blre.2011.03.002
10. Massberg S, Gawaz M, Grüner S, Schulte V, Konrad I, Zohlnhöfer D, et al. A crucial role of glycoprotein VI for platelet recruitment to the injured arterial wall in vivo. *J Exp Med*. 197(1):41–9. DOI:10.1084/jem.20020945
11. Reininger AJ, Heijnen HFG, Schumann H, Specht HM, Schramm W, Ruggeri ZM. Mechanism of platelet adhesion to von Willebrand factor and microparticle formation under high shear stress. *Blood*. 107(9):3537–45. DOI:10.1182/blood-2005-02-0618

12. Dong JF. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *J Thromb Haemost.* 3(8):1710–6. DOI:10.1111/j.1538-7836.2005.01360.x
13. Leung L, Nachman R. Molecular mechanisms of platelet aggregation. *Annu Rev Med.* 37(1):179–86. DOI:10.1146/annurev.me.37.020186.001143
14. Bonnefoy A, Hantgan R, Legrand C, Frojmovic MM. A Model of Platelet Aggregation Involving Multiple Interactions of Thrombospondin-1, Fibrinogen, and GPIIb/IIIa Receptor. *J Biol Chem.* 276(8):5605–12. DOI:10.1074/jbc.M010091200
15. Coppinger JA, Cagney G, Toomey S, Kislinger T, Belton O, McRedmond JP, et al. Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions. *Blood.* 103(6):2096–104. DOI:10.1182/blood-2003-08-2804
16. Lian L, Wang Y, Draznin J, Eslin D, Bennett JS, Poncz M, et al. The relative role of PLC β and PI3K γ in platelet activation. *Blood.* 106(1):110–7. DOI:10.1182/blood-2004-05-2005
17. Pape H, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie.* Vol. 9. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 105–112 p. DOI:10.1055/b-006-163285
18. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost.* 85(6):958–65. DOI:10.1055/s-0037-1615947
19. Hoffman MM, Monroe DM. Rethinking the coagulation cascade. *Curr Hematol Rep.* 4(5):391–6. DOI:10.2491/jjsth.16.70
20. Oliver JA, Monroe DM, Roberts HR, Hoffman M. Thrombin activates factor XI on activated platelets in the absence of factor XII. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19(1):170–7. DOI:10.1161/01.ATV.19.1.170
21. Kerris EWJ, Hoptay C, Calderon T, Freishtat RJ. Platelets and platelet extracellular vesicles in hemostasis and sepsis. *J Investig Med.* 68(4):813–20. DOI:10.1136/jim-2019-001195
22. Lentz BR. Exposure of platelet membrane phosphatidylserine regulates blood coagulation. *Prog Lipid Res.* 42(5):423–38. DOI:10.1016/S0163-7827(03)00025-0
23. Puhm F, Boilard E, MacHlus KR. Platelet extracellular vesicles; beyond the blood. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 41(1):87–96. DOI:10.1161/ATVBAHA.120.314644

24. Weisel JW, Litvinov RI. Fibrin formation, structure and properties. *Subcell Biochem.* 82:405–56. DOI:10.1007/978-3-319-49674-0_13
25. Köhler S, Schmid F, Settanni G. The Internal Dynamics of Fibrinogen and Its Implications for Coagulation and Adsorption. *PLoS Comput Biol.* 11(9):1–19. DOI:10.1371/journal.pcbi.1004346
26. Robbins KC. A STUDY ON THE CONVERSION OF FIBRINOGEN TO FIBRIN. *Am J Physiol Content.* 142(4):581–8. DOI:10.1152/ajplegacy.1944.142.4.581
27. Laki K, Lóránd L. On the solubility of fibrin clots. *Science (80-).* 108(2802):280. DOI:10.1126/science.108.2802.280
28. Duckert F, Jung E, Shmerling D. A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilizing factor deficiency. *Thromb Diath Haemorrh.* 5:179–86. DOI:10.1055/s-0038-1654918
29. Loewy AG, Dunathan K, Kriel R, Wolfinger HLJ. Fibrinase - Purification of substrate and enzyme. *J Biol Chem.* 236:2625–33.
30. Walter M, Nyman D, Krajnc V, Duckert F. The activation of plasma factor XIII with the snake venom enzymes ancrod and batroxobin marajoensis. *Thromb Haemost.* Aug. 31:438–46.
31. Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, Komáromi I, Katona É. Factor XIII: A coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. *Physiol Rev.* 91(3):931–72. DOI:10.1152/physrev.00016.2010
32. Barthels M. *Das Gerinnungskompndium: Schnellorientierung, Befundinterpretation, klinische Konsequenzen.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 1104 p.
33. Board PG, Webb GC, McKee J, Ichinose A. Localization of the coagulation factor XIII A subunit gene (F13A) to chromosome bands 6p24----p25. *Cytogenet Genome Res.* 48(1):25–7. DOI:10.1159/000132580
34. Shi DY, Wang SJ. Advances of coagulation factor XIII. *Chin Med J (Engl).* 130(2):219–23. DOI:10.4103/0366-6999.198007
35. Gupta S, Biswas A, Akhter MS, Krettler C, Reinhart C, Dodt J, et al. Revisiting the mechanism of coagulation factor XIII activation and regulation from a structure/functional perspective. *Sci Rep.* 6:1–16. DOI:10.1038/srep30105

36. Katona É, Péntzes K, Csapó A, Fazakas F, Udvardy ML, Bagoly Z, et al. Interaction of factor XIII subunits. *Blood*. 123(11):1757–63. DOI:10.1182/blood-2013-10-533596
37. Singh S, Dodt J, Volkers P, Hethershaw E, Philippou H, Ivaskevicius V, et al. Structure functional insights into calcium binding during the activation of coagulation factor XIII A. *Sci Rep*. 9:1–18. DOI:10.1038/s41598-019-47815-z
38. Karimi M, Bereczky Z, Cohan N, Muszbek L. Factor XIII deficiency. *Semin Thromb Hemost*. 35(4):426–38. DOI:10.1055/s-0029-1225765
39. Polgar J, Hidasi V, Muszbek L. Non-proteolytic activation of cellular protransglutaminase (placenta macrophage Factor XIII). *Biochem J*. 267(2):557–60. DOI:10.1042/bj2670557
40. Miloszewski K, Sheltawy MJ, Losowsky MS. Fibrinolysis and factor XIII. *Acta Haematol*. 52(1):40–6. DOI:10.1159/000208218
41. Muszbek L, Bagoly Z, Bereczky Z, Katona E. The Involvement of Blood Coagulation Factor XIII in Fibrinolysis and Thrombosis. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 6(3):190–205. DOI:10.2174/187152508784871990
42. Tsurupa G, Mahid A, Veklich Y, Weisel JW, Medved L. Structure, stability, and interaction of fibrin α -domain polymers. *Biochemistry*. 50(37):8028–37. DOI:10.1021/bi2008189
43. Chernysh IN, Nagaswami C, Purohit PK, Weisel JW. Fibrin clots are equilibrium polymers that can be remodeled without proteolytic digestion. *Sci Rep*. 2:1–6. DOI:10.1038/srep00879
44. Rosenfeld MA, Leonova VB, Shchegolikhin AN, Bychkova A V., Kostanova EA, Biryukova MI. Covalent structure of single-stranded fibrin oligomers cross-linked by FXIIIa. *Biochem Biophys Res Commun*. 461(2):408–12. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.04.052
45. Standeven KF, Carter AM, Grant PJ, Weisel JW, Chernysh I, Masova L, et al. Functional analysis of fibrin γ -chain cross-linking by activated factor XIII: Determination of a cross-linking pattern that maximizes clot stiffness. *Blood*. 110(3):902–7. DOI:10.1182/blood-2007-01-066837
46. Kurniawan NA, Grimbergen J, Koopman J, Koenderink GH. Factor XIII stiffens fibrin clots by causing fiber compaction. *J Thromb Haemost*. 12(10):1687–96. DOI:10.1111/jth.12705

47. Dardik R, Krapp T, Rosenthal E, Loscalzo J, Inbal A. Effect of FXIII on monocyte and fibroblast function. *Cell Physiol Biochem*. 19(1–4):113–20. DOI:10.1159/000099199
48. Alshehri FSM, Whyte CS, Mutch NJ. Factor XIII-A: An indispensable “factor” in haemostasis and wound healing. *Int J Mol Sci*. 22(6):1–21. DOI:10.3390/ijms22063055
49. Inbal A, Lubetsky A, Krapp T, Castel D, Shaish A, Dickneite G, et al. Impaired wound healing in factor XIII deficient mice. *Thromb Haemost*. 94(2):432–7. DOI:10.1160/TH05-04-0291/ID/JR0291-5
50. Mikkola H, Syrjala M, Rasi V, Vahtera E, Hamalainen E, Peltonen L, et al. Deficiency in the A-subunit of coagulation factor XIII: two novel point mutations demonstrate different effects on transcript levels. *Blood*. 2(84):517–25.
51. Kohler HP, Ichinose A, Seitz R, Ariens RAS, Muszbek L. Diagnosis and classification of factor XIII deficiencies. *J Thromb Haemost*. 9(7):1404–6. DOI:10.1111/j.1538-7836.2011.04315.x
52. Ariëns RAS, Lai TS, Weisel JW, Greenberg CS, Grant PJ. Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms. *Blood*. 100(3):743–54. DOI:10.1182/blood.V100.3.743
53. Menegatti M, Palla R, Boscarino M, Bucciarelli P, Muszbek L, Katona E, et al. Minimal factor XIII activity level to prevent major spontaneous bleeds. *J Thromb Haemost*. 15(9):1728–36. DOI:10.1111/jth.13772
54. Dorgalaleh A, Naderi M, Hosseini MS, Alizadeh S, Hosseini S, Tabibian S, et al. Factor XIII deficiency in Iran: A comprehensive review of the literature. *Semin Thromb Hemost*. 41(3):323–9. DOI:10.1055/s-0034-1395350
55. Ivaskevicius V, Seitz R, Kohler HP, Schroeder V, Muszbek L, Ariens RAS, et al. International registry on factor XIII deficiency: a basis formed mostly on European data. *Thromb Haemost*. 97(6):914–21.
56. Lim BCB, Ariëns RAS, Carter AM, Weisel JW, Grant PJ. Genetic regulation of fibrin structure and function: Complex gene-environment interactions may modulate vascular risk. *Lancet*. 361:1424–31. DOI:10.1016/S0140-6736(03)13135-2

57. Gerardino L, Papaleo P, Flex A, Gaetani E, Fioroni G, Pola P, et al. Coagulation factor XIII Val34Leu gene polymorphism and Alzheimer's disease. *Neurol Res.* 28(8):807–9. DOI:10.1179/016164106X110454
58. Hur WS, Mazinani N, Lu XJD, Yefet LS, Byrnes JR, Ho L, et al. Coagulation factor XIIIa cross-links amyloid into dimers and oligomers and to blood proteins. *J Biol Chem.* 294(2):390–6. DOI:10.1074/jbc.RA118.005352
59. Vokó Z, Bereczky Z, Katona É, Ádány R, Muszbek L. Factor XIII Val34Leu variant protects against coronary artery disease. *Thromb Haemost.* 98(2):458–63. DOI:10.1160/TH06
60. Wells PS, Anderson JL, Scarvelis DK, Doucette SP, Gagnon F. Factor XIII Val34Leu variant is protective against venous thromboembolism: A HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 164(2):101–9. DOI:10.1093/aje/kwj179
61. Yan MTS, Rydz N, Goodyear D, Sholzberg M. Acquired factor XIII deficiency: A review. *Transfus Apher Sci.* 57(6):724–30. DOI:10.1016/j.transci.2018.10.013
62. Tone KJ, James TE, Fergusson DA, Tinmouth A, Tay J, Avey MT, et al. Acquired Factor XIII Inhibitor in Hospitalized and Perioperative Patients: A Systematic Review of Case Reports and Case Series. *Transfus Med Rev.* 30(3):123–31. DOI:10.1016/j.tmr.2016.04.001
63. Ichinose A. Autoimmune acquired factor XIII deficiency due to anti-factor XIII/13 antibodies: A summary of 93 patients. *Blood Rev.* 31(1):37–45. DOI:10.1016/j.blre.2016.08.002
64. Tacke F, Fiedler K, von Depka M, Luedde T, Hecker H, Manns MP, et al. Clinical and prognostic role of plasma coagulation factor XIII activity for bleeding disorders and 6-year survival in patients with chronic liver disease. *Liver Int.* 26(2):173–81. DOI:10.1111/j.1478-3231.2005.01205.x
65. Intagliata NM, Davis JPE, Lafond J, Erdbruegger U, Greenberg CS, Northup PG, et al. Acute kidney injury is associated with low factor XIII in decompensated cirrhosis. *Dig Liver Dis.* 51(10):1409–15. DOI:10.1016/j.dld.2019.03.011

66. Kalbhenn J, Wittau N, Schmutz A, Zieger B, Schmidt R. Identification of acquired coagulation disorders and effects of target-controlled coagulation factor substitution on the incidence and severity of spontaneous intracranial bleeding during veno-venous ECMO therapy. *Perfus (United Kingdom)*. 30(8):675–82. DOI:10.1177/0267659115579714
67. Ito A, Iwashita Y, Esumi R, Sasaki K, Yukimitsu M, Kato T, et al. Acquired factor XIII deficiency in two patients with bleeding events during veno-venous extracorporeal membrane oxygenation treatment. *J Artif Organs*. 23(3):283–7. DOI:10.1007/s10047-019-01148-w
68. Solomon C, Korte W, Fries D, Pendrak I, Joch C, Gröner A, et al. Safety of Factor XIII Concentrate: Analysis of More than 20 Years of Pharmacovigilance Data. *Transfus Med Hemother*. 43:365–73. DOI:10.1159/000446813
69. Fachinformation Fibrogammin® P 250 E und Fibrogammin® P 1250 E. p. 1–12.
70. Odame JE, Chan AK, Wu JK, Breakey VR. Factor XIII deficiency management: A review of the literature. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 25(3):199–205. DOI:10.1097/MBC.000000000000029
71. Muszbek L, Katona É. Diagnosis and Management of Congenital and Acquired FXIII Deficiencies. *Semin Thromb Hemost*. 42(4):429–39. DOI:10.1055/s-0036-1572326
72. Schmitt FCF, der Forst M von, Miesbach W, Casu S, Weigand MA, Alesci S. Mild Acquired Factor XIII Deficiency and Clinical Relevance at the ICU—A Retrospective Analysis. *Clin Appl Thromb*. 27:1–7. DOI:10.1177/10760296211024741
73. Peschen M, Thimm C, Weyl A, Weiss JM, Kurz H, Augustin M, et al. Possible role of coagulation factor XIII in the pathogenesis of venous leg ulcers. *Vasa*. 27(2):89–93.
74. Zaets SB, Xu DZ, Lu Q, Feketova E, Berezina TL, Malinina I V., et al. Recombinant factor xiii mitigates hemorrhagic shock-induced organ dysfunction. *J Surg Res*. 166(2):135–42. DOI:10.1016/j.jss.2010.12.001

75. Jámbor C, Reul V, Schnider TW, Degiacomi P, Metzner H, Korte WC. In vitro inhibition of factor XIII retards clot formation, reduces clot firmness, and increases fibrinolytic effects in whole blood. *Anesth Analg*. 109(4):1023–8. DOI:10.1213/ANE.0b013e3181b5a263
76. Crochemore T, Savioli FA. Thromboelastometry Identified Alteration of Clot Stabilization and Factor XIII Supplementation Need in a Patient with Decompensated Liver Disease Undergoing Liver Biopsy. *Case Rep Gastrointest Med*. 2018:1–4. DOI:10.1155/2018/6360543
77. Martinuzzo M, Barrera L, Altuna D, Tisi Baña F, Bieti J, Amigo Q, et al. Effects of Factor XIII Deficiency on Thromboelastography. Thromboelastography with Calcium and Streptokinase Addition is more Sensitive than Solubility Tests. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 8(1):1–8. DOI:10.4084/MJHID.2016.037
78. Duque P, Chasco-Ganuza M, Ortuzar A, Almaraz C, Terradillos E, Perez-Rus G, et al. Acquired FXIII Deficiency is Associated with High Morbidity. *Thromb Haemost*. DOI:10.1055/a-1481-2733
79. Kozek-Langenecker SA, Ahmed AB, Afshari A, Albaladejo P, Aldecoa C, Barauskas G, et al. Management of severe perioperative bleeding: Guidelines from the European Society of Anaesthesiology. Vol. 34, *European Journal of Anaesthesiology*. p. 332–95. DOI:10.1097/EJA.0000000000000630
80. Uysal N, Gündoğdu N, Börekçi S, Dikensoy Ö, Bayram N, Uyar M, et al. Prognosis of patients in a medical intensive care unit of a tertiary care centre. *J Med Surg Intensive Care Med*. 1(1):1–5.
81. Unal AU, Kostek O, Takir M, Caklili O, Uzunlulu M, Oguz A. Prognosis of patients in a medical intensive care unit. *North Clin Istanbul*. 2(3):189–95. DOI:10.14744/NCI.2015.79188
82. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, Nanchal R, Martin-Loeches I, Wittebole X, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Med*. 44(3):337–44. DOI:10.1007/s00134-017-5043-2
83. Hedner U, Henriksson P, Nilsson IM. Factor XIII in a clinical material. *Scand J Haematol*. 14(2):114–9. DOI:10.1111/J.1600-0609.1975.TB00303.X

84. Lorenz R, Olbert P, Born P. Factor XIII in chronic inflammatory bowel diseases. *Semin Thromb Hemost.* 22(5):451–5. DOI:10.1055/S-2007-999045
85. Seitz R, Leugner F, Katschinski M, Immel A, Kraus M, Egbring R, et al. Ulcerative colitis and Crohn's disease: factor XIII, inflammation and haemostasis. *Digestion.* 55(6):361–7. DOI:10.1159/000201166
86. Zeerleder S, Schroeder V, Lämmle B, Wuillemin WA, Hack CE, Kohler HP. Factor XIII in severe sepsis and septic shock. *Thromb Res.* 119(3):311–8. DOI:10.1016/j.thromres.2006.02.003
87. Biland L, Duckert F, Prischer S, Nyman D. Quantitative estimation of coagulation factors in liver disease. The diagnostic and prognostic value of factor XIII, factor V and plasminogen. *Thromb Haemost.* 39(3):646–56.
88. Walls WD, Losowsky MS. The Hemostatic Defect of Liver Disease. *Gastroenterology.* 60(1):108–19. DOI:10.1016/S0016-5085(71)80014-8
89. Mazzeffi M, Greenwood J, Tanaka K, Menaker J, Rector R, Herr D, et al. Bleeding, Transfusion, and Mortality on Extracorporeal Life Support: ECLS Working Group on Thrombosis and Hemostasis. *Ann Thorac Surg.* 101(2):682–9. DOI:10.1016/j.athoracsur.2015.07.046