

# Potentielle genetische Polymorphismen der venösen Thromboembolie

## New Candidate Gene Polymorphisms in Venous Thrombosis

M. von Depka<sup>1</sup> and Silke Ehrenforth<sup>2</sup>

**Zusammenfassung:** Venöse thromboembolische Erkrankungen ereignen sich bei ca. 1 von 1000 Individuen jährlich. Meist handelt es sich dabei um ein multifaktorielles Geschehen, das durch Zusammenwirken erworbener bzw. exogener Risikofaktoren einerseits sowie genetisch bedingter Veränderungen andererseits verursacht ist. In den letzten Jahren wurden mehrere Risikofaktoren der hereditären Thrombophilie identifiziert, die inzwischen als etabliert gelten. Daneben gibt es jedoch eine Reihe weiterer genetischer Defekte, deren Beteiligung bei der Entstehung venöser Thrombosen wahrscheinlich oder zumindest theoretisch denkbar ist. In diesem Überblick werden als solche Lipoprotein (a), Thrombomodulin, Fibrinogen, der Thrombin-aktivierbare Fibrinolyse Inhibitor (TAFI), Gewebefaktor (Tissue Factor) sowie der Endothelzell-Protein C Rezeptor (EPCR) dargestellt, ihre biochemischen Eigenschaften sowie physiologischen Funktionen zusammengefaßt und bekannte Mutationen bzw. Polymorphismen der betreffenden Gene als mögliche Risikofaktoren der hereditären Thrombophilie diskutiert. Vorzugsweise werden die bisherigen Kenntnisse über ihre wahrscheinliche pathophysiologische Beteiligung bei der Entstehung venöser Gefäßverschlüsse kritisch gewürdigt.

**Schlüsselwörter:** Hereditäre Thrombophilie; venöse Thromboembolie; genetische Polymorphismen.

**Summary:** Venous thromboembolism affects 1 in 1000 individuals annually. In most cases the underlying mechanism is multifactorial and caused by a combination of exogenous, acquired risk factors as well as genetic aberrations. Recently, several risk factors of hereditary thrombophilia have been identified which are now regarded as well established. However, further emerging candidate gene polymorphisms have been reported which may also predispose to venous thromboembolism. Among them, Lipoprotein (a), thrombomodulin, fibrinogen, thrombin activable fibrinolysis inhibitor

(TAFI), tissue factor as well as endothelial cell protein C receptor (EPCR) are considered in this review. Their biochemical properties and their physiological functions are summarized. The current knowledge of mutations or polymorphisms in the genes concerned is reviewed, and their possible pathophysiological role in the genesis of venous thromboembolism is discussed.

**Keywords:** hereditary thrombophilia; venous thromboembolism; gene polymorphisms.

Das Hämostasesystem ist ein komplexes System, das auf der Ebene von Aktivatoren, Inhibitoren und Rezeptoren reguliert wird. Infolge einer Verletzung des Gefäßsystems wird es aktiviert und führt über die Bildung eines Thrombus zur Blutstillung. Eine Balance der prokoagulatorischen sowie der anti-koagulatorischen Mechanismen verhindert meist effektiv eine überschießende oder nicht zeitgerechte Aktivierung des Hämostasesystems. Unter bestimmten Umständen können jedoch Fehlregulationen über eine Verschiebung der Hämostase zugunsten prokoagulatorischer Mechanismen zu Gefäßverschlüssen führen. Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die wesentliche Todesursache der westlichen Bevölkerung dar. Jährlich erleidet ca. 1 pro 1000 Individuen ein venöses thromboembolisches Ereignis (VTE) als Folge des Zusammenwirkens von umweltbedingten sowie genetischen Risikofaktoren [1]. In den letzten Jahren konnte eine Reihe von genetischen Defekten identifiziert werden, die inzwischen als etablierte Risikofaktoren der hereditären Thrombophilie gelten und die sich bei einem Großteil der Patienten mit thromboembolischen Ereignissen identifizieren lassen [2–6]. Daneben gibt es jedoch weitere genetische Störungen, deren Beteiligung bei der Entstehung venöser Thrombosen wahrscheinlich, zumindest aber theoretisch denkbar ist. Ziel dieser Übersicht ist es, die derzeitigen Kenntnisse über genetische Aberrationen, die möglicherweise zu thromboembolischen Komplikationen prädisponieren, kritisch zusammenzufassen.

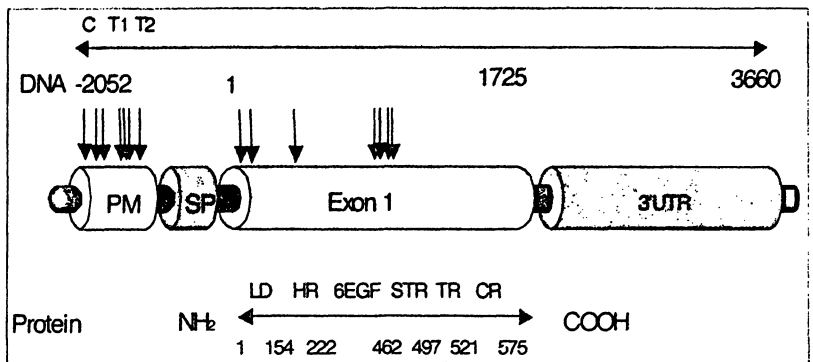
### Lipoprotein (a)

Berg et al. [7] beschrieben Lipoprotein (a) (Lp(a)) erstmals als genetische Variante des LDL, das erst später als eigenes Lipoprotein erkannt wurde. Im Gegen-

<sup>1</sup>Medizinische Hochschule Hannover, Abteilung Hämatologie und Onkologie.

<sup>2</sup>Klinikum der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt am Main, Zentrum Innere Medizin, Schwerpunkt Angiologie.  
Korrespondenzadresse: Mario von Depka Prondzinski, Medizinische Hochschule Hannover, Abteilung Hämatologie und Onkologie, Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover, Deutschland.  
Fax: +49 511-532-9242, E-Mail: Depka.Mario@MH-Hannover.de

**Abbildung 1** Thrombomodulin-Strukturmodell (C = CCAAT-Box, T1 und T2 = TATAAA-Boxen, PM = Promoter, SP = Signalpeptid, UTR = untranslated region, LD = Lectin-ähnliche Domäne, HR = hydrophobe Region, 6EGF = 6 EGF-ähnliche Domänen, STR = Ser/Thr-reiche Region, TR = transmembranäre Region, CR = cytoplasmatische Region, Pfeile bezeichnen bekannte Mutationen/Polymorphismen bei Patienten mit VTE).



satz zu LDL enthält Lp(a) zusätzlich Apolipoprotein (a), das über Disulfidbrücken mit Apolipoprotein B100 verknüpft ist [8, 9]. Das Apolipoprotein (a) weist eine unterschiedliche Anzahl an Kringel IV-Domänen auf, die hochhomolog zu den Kringel-Strukturen des Plasminogens sind [10]. Die unterschiedliche Anzahl der Kringel domänen bedingt eine Heterogenität von verschiedenen Phänotypen des Lp(a). Damit weist es erhebliche Ähnlichkeiten mit Plasminogen auf [10] und vermag mit ihm kompetitiv zu interferieren, ohne seine fibrinolytischen Eigenschaften zu entfalten. Lp(a) kann mit Fibrin, Thrombozyten und Zelloberflächenrezeptoren interagieren [11] und auf diese Weise die Fibrinolyse inhibieren und die Entstehung von Thromben protegieren [12–16]. Darüber hinaus ist Lp(a) in der Lage, an t-PA zu binden und es zu hemmen [17, 18]. Dieses prothrombotische Potential läßt Lp(a) als direkte Brücke zwischen Thrombogenese und Arteriosklerose erscheinen, da hohe Lp(a)-Spiegel mit der Entwicklung der Arteriosklerose, aber auch mit koronaren Restenosen sowie ischämischem cerebrovaskulären Ereignissen vergesellschaftet sind [19–24]. Die Verteilung der Konzentration beim Menschen ist rechts-schief mit einem Median von ca. 10 mg/dl. Die Spannweite reicht von Werten unter der Nachweisgrenze bis hin zu weit mehr als 300 mg/dl.

Frank et al. [25] konnten zeigen, daß das Lp(a)-Gen auf dem Chromosom 6 lokalisiert ist (6q26-q27). Durch spätere Untersuchungen wurde deutlich, daß die Heterogenität der Lp(a)-Phänotypen genetisch kontrolliert ist [26, 27] und daß das Lp(a)-Gen selbst für die genetische Variabilität der Plasma-Lp(a)-Spiegel verantwortlich ist [28].

In einer kleineren Untersuchung konnten Atsumi und Mitarbeiter [29] bei Patienten mit Antiphospholipid-Antikörpersyndrom erhöhte Lp(a)-Spiegel nachweisen, unabhängig davon, ob Verschlüsse in venösen oder arteriellen Gefäßen auftraten. Kürzlich konnte gezeigt werden, daß Lp(a) ein Risikoparameter für venöse Thromboembolien im Kindesalter darstellt [30]. Wir konnten durch Untersuchungen an 685 Patienten mit mindestens einem VTE zeigen [31], daß erhöhte Lp(a)-Spiegel signifikant häufiger als bei gesunden Kontrollpersonen zu finden sind (20 versus 7 %,  $p < 0,001$ ) und daß bereits Lp(a)-Spiegel ab einer Höhe

von 10 mg/dl konzentrationsabhängig mit einem erhöhten relativen Risiko bezüglich venöser thromboembolischer Ereignisse vergesellschaftet sind. Dabei war das relative Risiko bei Patienten mit Lp(a)-Konzentrationen von mehr 30 mg/dl, eine Thrombose zu erleiden, ca. dreifach erhöht. Insbesondere Patienten, die zugleich eine Faktor V:Q506-Mutation aufwiesen (relatives Risiko ca. zehnfach erhöht), sowie Frauen mit oraler Kontrazeption (relatives Risiko ca. vierfach erhöht) scheinen bei Lp(a)-Erhöhung ein deutlich höheres Thromboembolierisiko zu besitzen. Zugrundeliegende genetische Ursachen sind bislang nicht bekannt.

## Thrombomodulin

Thrombomodulin (TM) ist ein 60,3 kD großer endothelialer Rezeptor insbesondere der Mikrozirkulation, dessen Plasmakonzentration ca. 20 ng/ml beträgt [32] und der außerdem noch auf Monozyten vorkommt. Mit hoher Affinität bindet er in einem 1:1-Komplex Thrombin [33] und beschleunigt die Aktivierung von Protein C erheblich [34], während Thrombin alle seine prokoagulatorischen Wirkungen, die Aktivierung von Plättchen sowie der Faktoren V, VIII, XI und XIII, die Konvertierung von Fibrinogen zu Fibrin, die Faktor Xa-vermittelte Autoaktivierung von Prothrombin und die Inaktivierung von Protein S, im Komplex mit TM verliert [35]. Jüngere Untersuchungen legen nahe, daß der Thrombin-TM-Komplex auch bei der Regulation der Fibrinolyse durch Aktivierung des Thrombin aktivierbaren Fibrinolyse-Inhibitors (TAFI, s.u.) beteiligt ist [36]. Der Thrombin-TM-Komplex wird innerhalb weniger Sekunden mittels Endozytose internalisiert, wobei TM nach Freisetzung des Thrombins wiederum auf der Zelloberfläche erscheint.

Die Regulation der TM-Expression erfolgt über verschiedene Mechanismen wie beispielsweise Zytokine (Tumornekrosefaktor, Hormone) oder Scherkräfte, aber auch über Modulation der Endozytose sowie der intrazellulären Degradation des Rezeptors [33]. Über die Mechanismen der Ablösung von der Zelloberfläche, die zur Zirkulation von freiem TM führt, ist wenig bekannt. Das intronlose Thrombomodulin-Gen (THBD Gen) besteht aus 1725 Basenpaaren und ist auf dem Chromosom 20 lokalisiert [37] (Abbildung 1).

Durch verschiedene Mediatoren wie Tumornekrosefaktor  $\alpha$ , Endotoxin, Interleukin 1, TGF- $\beta$ 1 und - $\beta$ 2 läßt sich die Expression von TM in vitro reduzieren, während andere wie cyclo-AMP, Hitzeschock Faktoren und Scherstreß sie erhöhen [38].

Da dem Protein C-System erhebliche Bedeutung bei der Entstehung venöser Thrombosen zukommt, liegt es angesichts der zentralen Funktion von TM für dies System nahe, daß Veränderungen der Moleküleigenschaften von TM oder seiner Expression auf Endothelzellen ein möglicher Risikofaktor für Thromboembolien darstellt. Erschwert wird die Analyse derartiger Zusammenhänge jedoch durch die physiologische Lokalisation von TM, weshalb einfache Untersuchungen der Plasmaspiegel oder -aktivitäten nicht unmittelbare Rückschlüsse auf eine Assoziation mit spezifischen Genotypen zulassen. Bei Patienten mit venösen Verschlüssen sind verschiedene Mutationen im THBD Gen beschrieben worden. Auch im TM-Promoterbereich sind Polymorphismen identifiziert worden, ohne daß jedoch eine Häufung einer der Polymorphismen unter Patienten mit venösen Verschlüssen gefunden werden konnte [39]. Bei Patienten der PATHROS-Studie konnte lediglich ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Deletion von zwei Nukleotiden (-1208/-1209) mit Varicosis gefunden werden, ohne daß jedoch eine pathophysiologische Ursache dafür bekannt ist. *Öhlin* und Mitarbeiter [40] haben eine Punktmutation in Form einer G zu T-Substitution an der Position 1456 im THBD Gen eines Patienten mit Lungenembolie identifizieren können, die zu einem Asp468Tyr-Austausch führt. Allerdings konnte anhand von Transfektionsuntersuchungen gezeigt werden, daß diese Variante eine vergleichbare Zellexpression und auch Protein C-Kofaktoraktivität mit vergleichbaren Michaelis-Konstanten  $K_m$  und  $V_{max}$  besitzt wie der Wildtyp [41]. In einer italienischen Untersuchung wurde diese Mutation unter Patienten mit venösen Thrombosen nicht gefunden [42].

## Fibrinogen

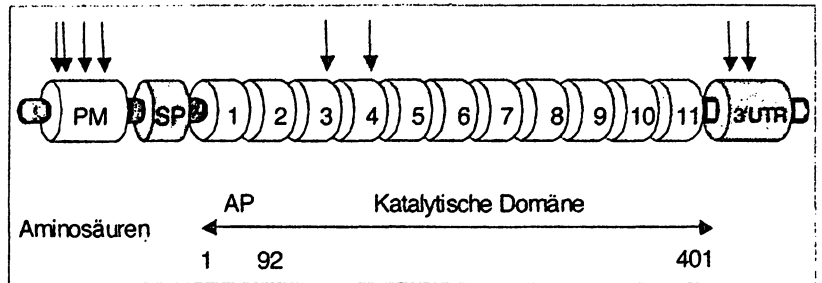
Das 340 kD große Glykoprotein wird in der Leber synthetisiert. Es besteht aus drei unterschiedlichen Polypeptidketten-Paaren, die durch Disulfidbrücken untereinander zu einem symmetrischen Dimer mit zwei äußeren D-Domänen und einer zentralen E-Domäne verknüpft sind ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Ketten [43, 44]). Beim Gerinnungsvorgang überführt Thrombin Fibrinogen durch Abspaltung der Fibrinopeptide A und B in das unlösliche Fibrin [45]. Fibrinogen wird dabei verbraucht und ist in Serum nicht mehr nachweisbar. Durch die Abspaltung werden neue Polymerisations-Regionen generiert, die durch spontane D-E-Interaktionen eine Bindung anderer Fibrin- bzw. Fibrinogenmoleküle erlauben. Während der Fibrininformation entstehen kovalente Bindungen zum Plasmininhibitor

( $\alpha$ 2-Antiplasmin) und Fibronektin. Fibrin ist außerordentlich zugänglich für die Proteolyse durch Plasmin, wodurch am C-terminalen Ende des Fibrins Lysinreste entstehen, die zu einer maximalen Stimulation der Aktivierung von Plasminogen durch t-PA zu Plasmin führen. Darüber hinaus mediiert Fibrinogen die Bindung von Plättchen über deren  $\alpha_{2b}\beta_3$ -Rezeptor [46]. Die Konzentration im Plasma liegt zwischen 200 und 400 mg/dl, seine biologische Halbwertszeit liegt bei etwa 100–112 Stunden.

Alle drei Polypeptidketten werden durch Gene kodiert, die auf dem Chromosom 4 lokalisiert sind [47, 48]. Die drei Fibrinogen mRNAs stellen zusammen ca. 3 % der gesamten hepatischen mRNA dar. Die Regulation der Fibrinogen  $\gamma$ -RNA unterscheidet sich jedoch von der Aa und B $\beta$ -mRNA. Die Transkription des  $\gamma$ -Promoters wird durch ubiquitäre Faktoren wie Sp1, einem CAAT bindenden Faktor, reguliert, während diejenige des Aa- und B $\beta$ -Promoters gewebsspezifisch HNF-1 (hepatocyte nuclear factor-1) benötigt. Die Gabe von IL-6 führt zu einer erhöhten Expression, was eine enge Verzahnung mit Akut-Phase-Regulationen zeigt [49–51].

Während mehrere Studien belegen, daß erhöhte Fibrinogenspiegel mit einem gehäuftem Auftreten arterieller, insbesondere kardiovaskulärer Verschlüsse vergesellschaftet sind [52–57], kommen venöse Verschlüsse insbesondere bei Patienten mit Dysfibrinogenämien bzw. seltener auch mit Hypofibrinogenämien vor. Hereditäre Dysfibrinogenämien sind verursacht durch strukturell aberrante Moleküle mit defektiver Funktion [58]. Leitbefunde der Dysfibrinogenämie sind eine verlängerte Thrombinzeit, eine verlängerte Batroxobinzeit oder eine deutliche Diskrepanz zwischen dem gerinnbaren Fibrinogen und dem mittels immunologischen Methoden nachweisbaren Fibrinogen, ohne daß diese Befunde zwingend auftreten müssen. Mehr als 300 Patienten mit Dysfibrinogenämie sind inzwischen beschrieben, von denen ca. ein Fünftel zugleich eine Thromboseneigung aufweist [59] (siehe auch <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim>), die sich bei Frauen insbesondere prä- und postpartal zu manifestieren scheint. Dysfibrinogenämien, die zu einer Thromboseneigung führen, scheinen insbesondere auf einer veränderten Fibrinopeptid-Freisetzung [60], einer gestörten Fibrinpolymerisation [61–65], abnormalen Plättcheninteraktionen [66], einer gestörten Rekrutierung von Fibrinolysefaktoren und/oder Fibrinolyse [67–71] sowie einer gestörten Calciumbindung zu fußen [60, 64].

In einer Studie von *Koster* et al. [72] konnte gezeigt werden, daß Fibrinogenspiegel  $\geq 5$  g/l mit einem ca. 3–4fach erhöhten Thromboserisiko im Vergleich zu Referenzfällen mit  $\leq 3$  g/l assoziiert sind. Diese Assoziation zeigte sich auch nach Korrektur durch hohe CRP-Spiegel, um Akut-Phasen-Reaktionen als Ursache auszuschließen [73]. Weitere Studien, die den genannten Zusammenhang belegen, existieren bislang nicht, auch ist eine mögliche genetische Ursache noch nicht identifiziert worden.



**Abbildung 2** TAFI-Strukturmodell (PM = Promoter, SP = Signalpeptid, AP = Aktivierungspeptid, Pfeile markieren bekannte Polymorphismen/Mutationen bei Patienten mit VTE).

## TAFI

Der durch Thrombin aktivierbare Fibrinolyse Inhibitor (TAFI, auch Plasma-Pro-Carboxypeptidase B oder Pro-Carboxypeptidase U genannt) ist ein einkettiges Glykoprotein-Zymogen mit einem Molekulargewicht von 60 kD, das in der Leber synthetisiert wird [74, 75]. Die durch Thrombin induzierte Spaltung führt zur Freisetzung eines N-terminalen Aktivierungspeptids aus 92 Aminosäuren, das auch eine Plasminogen bindende Region umfaßt (Abbildung 2). Die Thrombin vermittelte Aktivierungsrate von TAFI wird durch Komplexierung des Thrombin mit Thrombomodulin mehr als tausendfach beschleunigt [76]. Die 309 Aminosäuren umfassende C-terminale katalytische Domäne (TAFIa) ist homolog zur Gewebe-Carboxypeptidase B. Plasminogen und t-PA binden an C-terminale Lysinreste von Fibrin, wodurch nach Aktivierung des Plasminogens zu Plasmin eine effektive Fibrinolyse ermöglicht wird [77]. Durch die Fibrinolyse werden weitere Lysinreste generiert, was den Prozeß der Fibrinolyse amplifiziert. Die Hemmung der Fibrinolyse durch TAFI beruht auf dessen Fähigkeit, spezifisch an Plasminogen zu binden und C-terminale Lysinreste (sowie Argininreste) von Fibrin und auch Zelloberflächen abzuspalten, was die Anzahl an Plasminogen- und t-PA-Bindungsstellen eines Fibringerinnsels reduziert.

Das 11 Exons enthaltende TAFI-Gen ist auf dem Chromosom 13 lokalisiert (13q14.1) und umfaßt 48 kb [78, 79].

Die Tatsache, daß TAFI die Fibrinolyse hemmt, legt die Vermutung nahe, daß erhöhte TAFI-Spiegel oder Aktivitäten ein Thromboserisiko bedingen könnten. Untersuchungen zur t-PA-induzierten Thrombolyse im Kaninchen-Jugularvenenmodell zeigten eine höhere Effektivität der Fibrinolyse bei gleichzeitiger Inhibition von TAFI [80]. Kürzlich wurden verschiedene Polymorphismen im Promotorbereich sowie in der 3'UTR beschrieben, die klar mit dem TAFI-Spiegel korrelierten und den Großteil der Variabilität der TAFI-Plasmaspiegel erklären [81]. *Van Tilburg* und Mitarbeiter [82] konnten durch Untersuchungen an Patienten der Leiden Thrombophilia Study (LETS) zeigen, daß TAFI-Antigenspiegel bei Patienten mit venösen Thrombosen im Vergleich zu gesunden Kontrollen nicht signifikant unterschiedlich waren. Erhöhte Spie-

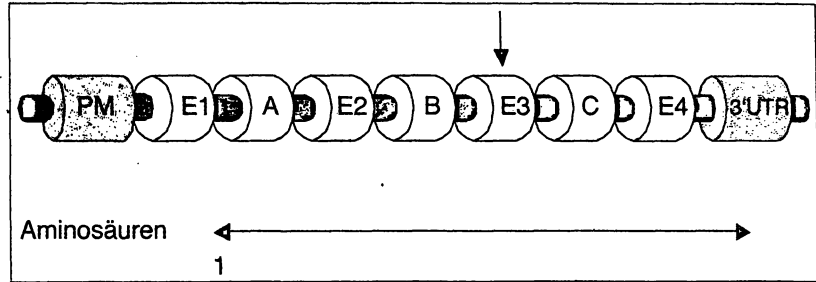
gel waren mit einem 1,7fach und somit verhältnismäßig milden relativen Risiko für venöse Thrombosen vergesellschaftet. Systematische Untersuchungen zur TAFI-Aktivität im Plasma von Patienten mit thromboembolischen Ereignissen liegen derzeit noch nicht vor. Insgesamt legen jedoch Analysen zur Bedeutung von Parametern der Fibrinolyse wie Plasminogen oder t-PA bzw. von Fibrinolyseinhibitoren wie PAI-1 nahe, daß eine überschießende Fibrinbildung in erster Linie aus einem gestörten Gleichgewicht zwischen Prokoagulation und Antikoagulation resultiert und weniger aus einer Dysfunktion oder Dysbalance des Fibrinolyse-systems [83–85].

## Tissue Factor

Der Gewebefaktor (TF) ist ein 47 kD großes transmembranäres Protein, das auf einer Vielzahl von Geweben vorhanden ist [86]. Allerdings findet er sich nicht auf normalen Blutzellen sowie ruhendem Endothel. Bei Kontakt mit dem Gerinnungssystem initiiert er über Komplexierung mit Faktor VII die Gerinnung [87]. Dieser Aktivierungsweg mit TF als Hauptinitiator stellt den wesentlichen Start der Fibrinbildung dar [88]. Insofern kommt dem Gewebefaktor für die Hämostase ein Schlüsselstellung zu. Neben dem zellständigen TF findet sich regelmäßig Gewebefaktor auch in der Zirkulation. Ähnlich wie bei TM sind Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen in vivo TF-Aktivität oder -Spiegel und einer Thrombosenneigung durch die physiologische Lokalisation von TF auf Zelloberflächen erschwert, da nicht unmittelbar vom Plasmaspiegel oder von plasmatischer Aktivität auf die zellulären Verhältnisse geschlossen werden kann.

Das TF-Gen befindet sich auf dem Chromosom 1 (p21-p22) und umspannt 6 Exons mit insgesamt mehr als 12 kb [89]. TF findet sich konstitutiv auf Zelloberflächen, kann jedoch auch durch Zellen, die zunächst kein TF bilden, durch de-novo Synthese rasch exprimiert werden. Als Initiatoren der TF-Transkription wurden beispielsweise AP-1, NF- $\kappa$ B, SP1 und Egr-1 erkannt. So ist LPS in der Lage, die de-novo Synthese über Egr-1 zu induzieren [90].

Gewebefaktor-Spiegel sind bei Patienten mit disseminierter intravasaler Koagulopathie zum Teil dramatisch erhöht [91], was durch Thrombin und Fibrinolyseprodukte verstärkt sein kann, da diese die Gewebefaktor-



**Abbildung 3** EPCR-Strukturmodell (PM = Promoter, E1-E4 = Exons, A-C = Introns, UTR = untranslated region, Pfeil markiert die 23 bp-Deletion).

expression durch Endothelzellen stimulieren können [92]. Aber auch verschiedene Zytokine und Lipopolysaccharide sowie Homozystein sind dazu in der Lage. Diese Zusammenhänge sowie die bedeutenden Funktionen von TF unterstützen die Hypothese, daß Defekte des TF zu einer Thrombophilie prädisponieren könnten. Im Tiermodell konnte anhand eines Kaninchen-Jugularvenenstase-Modells gezeigt werden, daß Injektion von TF-exprimierenden mononukleären Zellen eine Thrombusbildung induzieren können [93]. Unter 255 Patienten mit VTE fanden *Arnaud* und Mitarbeiter [94] das 1208 D-Allel des TF-Promoters signifikant seltener als unter 1204 gesunden Kontrollen. Homozygotie für dies D-Allel war mit niedrigeren Plasmaspiegeln vergesellschaftet. Die Autoren schlossen, daß dieser Polymorphismus mit niedrigeren TF-Spiegeln im Plasma und mit einem geringeren Thromboserisiko assoziiert ist. Der Zusammenhang war jedoch nur schwach ausgeprägt, unterstützt aber die Annahme, daß Polymorphismen des TF-Gens das Thromboserisiko beeinflussen könnten.

## Endothelzell-Protein C Rezeptor

Dem Protein C-System kommt in Bezug auf Thromboseneigung offenbar die größte Bedeutung zu, was beispielsweise durch die APC-Resistenz belegt wird [5]. Protein C und aktiviertes Protein C (APC) binden auf Endothelzellen an ihren 43 kD großen Rezeptor, dem Endothelzell-Protein C Rezeptor (EPCR), der auf der Oberfläche von Endothelzellen insbesondere größerer Gefäße und Arterien lokalisiert ist [95]. Eine seiner wesentlichen physiologischen Funktionen scheint in der konzentrationsabhängigen Verstärkung der Protein C-Aktivierung durch den Thrombin-Thrombomodulin-Komplex zu liegen. Andererseits kann EPCR jedoch auch die APC-Aktivität hemmen und könnte somit auf verschiedene Weisen zu einer erhöhten Thromboseneigung beitragen.

Kürzlich wurde eine 23 Basenpaare umfassende Insertion im Exon 3 beschrieben, die zur Generierung eines Stopkodons führt, so daß ein Teil von Exon 3 sowie das gesamte Exon 4 nicht mehr transkribiert werden (Abbildung 3). In einer kleinen Untersuchungsreihe fanden *Merati* et al. [96] diese Deletion unter 149 Patienten mit VTE gehäuft im Vergleich zu 404 gesunden Kontrollen, so daß sich ein erhöhtes rela-

tes Risiko dieser Mutation für VTE ergab. In einer eigenen Untersuchungsreihe an 889 Patienten mit VTE konnten wir diese Mutation jedoch nur bei einer Patientin, die zugleich heterozygot für die Faktor V:Q506-Mutation [5] war, nachweisen, während sie bei drei von 500 gesunden Kontrollen zu finden war [97]. Dessen ungeachtet bleibt EPCR ein interessantes Molekül im Blick auf die Thrombophilie. Kommerzielle Tests zur Bestimmung seiner Aktivität bzw. Konzentration sind derzeit noch nicht verfügbar.

## Literatur

1. Seligsohn U, Zivelin A. Thrombophilia as a multigenic disorder. *Thromb Haemost* 1997;78:297-301.
2. Egeberg O. Inherited antithrombin III deficiency causing thrombophilia. *Thromb Diath Haemorrh* 1965;13:516-30.
3. Griffin JH, Evatt B, Zimmerman TS, Kleiss AJ, Wideman C. Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J Clin Invest* 1981;68:1370-3.
4. Comp PC, Nixon RR, Cooper MR, Esmon CT. Familial protein S deficiency is associated with recurrent thrombosis. *J Clin Invest* 1984;74:2082-8.
5. Dahlbäck B. Inherited resistance to activated protein C, a major cause of venous thrombosis, is due to a mutation in the factor V gene. *Haemostasis* 1994;24:139-51.
6. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A Common Genetic Variation in the 3'-Untranslated Region of the Prothrombin Gene Is Associated With Elevated Plasma Prothrombin Levels and an Increase in Venous Thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-703.
7. Berg K, Mohr J. Genetics of Lp system. *Acta Genet Statist Med* 1963;13:349-60.
8. Fless GM, Rolih CA, Scanu AM. Heterogeneity of human plasma lipoprotein (a). Isolation and characterization of the lipoprotein subspecies and their apoproteins. *J Biol Chem* 1984;259:11470-8.
9. Brunner C, Kraft HG, Utermann G, Muller HJ. Cys4057 of apolipoprotein(a) is essential for lipoprotein(a) assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:11643-7.
10. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ, Eaton DL, Chen EY, Fless GM, Scanu AM, Lawn RM. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987;330:132-7.
11. Ezratty A, Simon DI, Loscalzo J. Lipoprotein(a) binds to human platelets and attenuates plasminogen binding and activation. *Biochemistry* 1993;32:4628-33.
12. Eriksson P, Nilsson L, Karpe F, Hamsten A. Very-low-density lipoprotein response element in the promoter region of the human plasminogen activator inhibitor-1 gene implicated in the impaired fibrinolysis of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:20-6.
13. Roubey D, Grailhe P, Nigon F, Chapman J, Anglés Cano E. Lipoprotein (a) impairs generation of plasmin by fibrin-bound tissue-type plasminogen activator. *In vitro studies in a plasma milieu*. *Arterioscler Thromb* 1991;11:629-38.
14. Etingin OR, Hajjar DP, Hajjar KA, Harpel PC, Nachman RL. Lipoprotein (a) regulates plasminogen activator inhibitor-1 expres-

- sion in endothelial cells. A potential mechanism in thrombogenesis. *J Biol Chem* 1991;266:2459-65.
15. Loscalzo J, Weinfeld M, Fless GM, Scanu AM. Lipoprotein(a), fibrin binding, and plasminogen activation. *Arteriosclerosis* 1990;10:240-5.
  16. Xue S, Green MA, LoGrasso PV, Boettcher BR, Madison EL, Curtiss LK, Miles LA. Comparison of the effects of Apo(a) kringle IV-10 and plasminogen kringle on the interactions of lipoprotein(a) with regulatory molecules. *Thromb Haemost* 1999;81:428-35.
  17. Simon DI, Fless GM, Scanu AM, Loscalzo J. Tissue-type plasminogen activator binds to and is inhibited by surface-bound lipoprotein(a) and low-density lipoprotein. *Biochemistry* 1991;30:6671-7.
  18. Soulat T, Loyau S, Baudouin V, Maisonneuve L, Hurtaud MF, Schlegel N, Loirat C, Angles-Cano E. Effect of individual plasma lipoprotein (a) variations in vivo on its competition with plasminogen for fibrin and cell binding. An in vitro study using plasma from children with idiopathic nephrotic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:575-84.
  19. Berg K, Dahlén G, Borresen AL. Lp(a) phenotypes, other lipoprotein parameters, and a family history of coronary heart disease in middle-aged males. *Clin Genet* 1979;16:347-52.
  20. Seman LJ, DeLuca C, Jenner JL, Cupples LA, McNamara JR, Wilson PW, Castellino WP, Ordovas JM, Schaefer EJ. Lipoprotein(a)-cholesterol and coronary heart disease in the Framingham Heart Study. *Clin Chem* 1999;45:1039-46.
  21. Scanu AM. Lipoprotein(a). A genetic risk factor for premature coronary heart disease. *JAMA* 1992;267:3326-9.
  22. Jauhainen M, Koskinen P, Ehnholm C, Frick MH, Mänttari M, Manninen V, Huttunen JK. Lipoprotein (a) and coronary heart disease risk: a nested case-control study of the Helsinki Heart Study participants. *Atherosclerosis* 1991;89:59-67.
  23. Stiel GM, Reblin T, Bührlein M, Lattermann A, Nienaber CA. Differences in lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) levels in men and women with advanced coronary atherosclerosis. *Coron Artery Dis* 1995;6:347-50.
  24. Stein JH, Rosenson RS. Lipoprotein Lp(a) excess and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1997;157:1170-6.
  25. Frank SL, Klisak I, Sparkes RS, Mohandas T, Tomlinson JE, McLean JW, Lawn RM, Lusis AJ. The apolipoprotein(a) gene resides on human chromosome 6q26-27, in close proximity to the homologous gene for plasminogen. *Hum Genet* 1988;79:352-6.
  26. Utermann G, Kraft HG, Menzel HJ, Hopferwieser T, Seitz C. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. I. Relation of Lp(a) glycoprotein phenotypes to Lp(a) lipoprotein concentrations in plasma. *Hum Genet* 1988;78:41-6.
  27. Utermann G, Duba C, Menzel HJ. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. II. Inheritance of Lp(a) glycoprotein phenotypes. *Hum Genet* 1988;78:47-50.
  28. Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90 % of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. *J Clin Invest* 1992;90:52-60.
  29. Atsumi T, Khamashta MA, Andujar C, Leandro MJ, Amengual O, Ames PR, Hughes GR. Elevated plasma lipoprotein(a) level and its association with impaired fibrinolysis in patients with antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1998;25:69-73.
  30. Nowak-Göttl U, Junker R, Hartmeier M, Koch HG, Munchow N, Assmann G, von Eckardstein A. Increased lipoprotein(a) is an important risk factor for venous thromboembolism in childhood. *Circulation* 1999;100:743-8.
  31. von Depka M, Nowak-Gottl U, Eisert R, Dieterich C, Barthels M, Scharrer I, Ganser A, Ehrenforth S. Increased lipoprotein (a) levels as an independent risk factor for venous thromboembolism. *Blood* 2000;96:3364-8.
  32. Ishii H, Majerus PW. Thrombomodulin is present in human plasma and urine. *J Clin Invest* 1985;76:2178-81.
  33. Dittmann WA, Majerus PW. Structure and function of thrombomodulin: a natural anticoagulant. *Blood* 1990;75:329-36.
  34. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem* 1989;264:4743-6.
  35. Ohishi R, Watanabe N, Arimoto M, Gomi K, Kiyota T, Yamamoto S, Ishida T, Maruyama I. Evidence that the protein C activation pathway amplifies the inhibition of thrombin generation by recombinant human thrombomodulin in plasma. *Thromb Haemost* 1993;70:423-6.
  36. Nesheim M, Wang W, Boffa M, Nagashima M, Morser J, Bajzar L. Thrombin, thrombomodulin, and TAFI in the molecular link between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1997;78:386-91.
  37. Espinosa R, Sadler JE, Le Beau MM. Regional localization of the human thrombomodulin gene to 20p12-cen. *Genomics* 1989;5:649-50.
  38. Sadler JE. Thrombomodulin structure and function. *Thromb Haemost* 1977;78:392-5.
  39. Le Flem L, Mennen L, Aubry M-L, Aiach M, Scarabin P-Y, Emmerich J, Alhenc-Gelas M. Thrombomodulin promoter mutations, venous thrombosis, and varicose veins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:445-51.
  40. Öhlin A-K, Marlar RA. The first mutation identified in the thrombomodulin gene in a 45-year-old man presenting with thromboembolic disease. *Blood* 1995;85:330-6.
  41. Nakazawa F, Koyama T, Saito T, Shibakura M, Yoshinaga H, Chung DH, Kamiyama R, Hirozawa S. Thrombomodulin with the Asp468Tyr mutation is expressed on the cell surface with normal cofactor activity for protein C activation. *Brit J Haematol* 1999;106:416-20.
  42. Faioni EM, Merati G, Peyvandi F, Bettini PM. The G1456 to T mutation in the thrombomodulin gene is not frequent in patients with venous thrombosis. *Blood* 1998;89:1467.
  43. Henschen A, Lottspeich F, Kehl M, Southan C. Covalent structure of fibrinogen. *Ann N Y Acad Sci* 1983;408:28-43.
  44. Henschen A. On the structure of functional sites in fibrinogen. *Thromb Res* 1983;Suppl 5:27-39.
  45. Binnie CG, Lord ST. The fibrinogen sequences that interact with thrombin. *Blood* 1993;81:3186-92.
  46. Marguerie GA, Plow EF, Edgington TS. Human platelets possess an inducible and saturable receptor specific for fibrinogen. *J Biol Chem* 1979;254:5357-63.
  47. Kant JA, Fornace AJ, Jr., Saxe D, Simon MI, McBride OW, Crabtree GR. Evolution and organization of the fibrinogen locus on chromosome 4: gene duplication accompanied by transposition and inversion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:2344-8.
  48. Olaisen B, Teisberg P, Gedde-Dahl T, Jr. Fibrinogen gamma chain locus is on chromosome 4 in man. *Hum Genet* 1982;61:24-6.
  49. Green F, Humphries S. Control of plasma fibrinogen levels. *Baillieres Clin Haematol* 1989;2:945-59.
  50. Liu Z, Fuller GM. Detection of a novel transcription factor for the A alpha fibrinogen gene in response to interleukin-6. *J Biol Chem* 1995;270:7580-6.
  51. Kugler W, Wagner U, Ryffel GU. Tissue-specificity of liver gene expression: a common liver-specific promoter element. *Nucleic Acids Res* 1988;16:3165-74.
  52. Reganon E, Vila V, Ferrando F, Martinez-Sales V, Fayos L, Ruano M, Aznar J. Elevated high molecular weight fibrinogen in plasma is predictive of coronary ischemic events after acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 1999;82:1403-5.
  53. van der Bom JG, de Maat MP, Bots ML, Haverkate F, de Jong PT, Hofman A, Kluit C, Grobbee DE. Elevated plasma fibrinogen: cause or consequence of cardiovascular disease? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:621-65.
  54. Lip GY, Lowe GD, Rumley A, Dunn FG. Fibrinogen and fibrin D-dimer levels in paroxysmal atrial fibrillation: evidence for intermediate elevated levels of intravascular thrombogenesis. *Am Heart J* 1996;131:724-30.
  55. Barts W, Nauck M, Schollmeyer P, Wanner C. Elevated lipoprotein(a) and fibrinogen levels [corrected] increase the cardiovascular risk in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1996;16:27-33.
  56. Smith FB, Lee AJ, Hau CM, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Plasma fibrinogen, haemostatic factors and prediction of peripheral arterial disease in the Edinburgh Artery Study. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000;11:43-50.
  57. Drouet L, Paolucci F, Pasqualini N, Laprade M, Ripoll L, Mazoyer E, Bal dit Sollier C, Vanhove N. Plasma gamma<sub>2</sub>/gamma<sub>1</sub> fibrinogen ratio, a marker of arterial thrombotic activity: a new potential cardiovascular risk factor? *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999;10 Suppl 1:S35-39.
  58. Mosesson MW. Dysfibrinogenemia and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 1999;25:311-9.
  59. Ebert R. Index of variant human fibrinogens. In: Boca Raton FL, ed: CRC Press, 1994.
  60. Koopman J, Haverkate F, Grimbergen J. Abnormal fibrinogens Ijmuiden (BBAArg14->Cys) and Nijmegen (BBAArg 44->Cys) form

- disulfide-linked fibrinogen-albumin complexes. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1992;89:3478-82.
61. Engesser L, Koopman J, de Munk G, Haverkate F, Novakova I, Verheijen JH, Briet E, Brommer EJ. Fibrinogen Nijmegen: congenital dysfibrinogenemia associated with impaired t-PA mediated plasminogen activation and decreased binding of t-PA. *Thromb Haemost* 1988;60:113-20.
  62. Borrell M, Gari M, Coll I, Vallve C, Tirado I, Soria JM, Sala N, Munoz C, Oliver A, Garcia A. Abnormal polymerization and normal binding of plasminogen and t-PA in three new dysfibrinogenemias: Barcelona III and IV (gamma Arg 275→His) and Villajoyosa (gamma Arg 275→Cys). *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995;6:198-206.
  63. Furlan M, Steinmann C, Jungo M, Bogli C, Baudo F, Redaelli R, Fedeli F, Lammle B. A frameshift mutation in Exon V of the A alpha-chain gene leading to truncated A alpha-chains in the homozygous dysfibrinogen Milano III. *J Biol Chem* 1994;269:33129-34.
  64. Furlan M, Steinmann C, Jungo M, Lammle B. Binding of calcium ions and their effect on clotting of fibrinogen Milano III, a variant with truncated A alpha-chains. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996;7:331-5.
  65. Soria J, Soria C, Caen P. A new type of congenital dysfibrinogenemia with defective fibrin lysis—Dusard syndrome: possible relation to thrombosis. *Br J Haematol* 1983;53:575-86.
  66. Galanakis DK. Inherited dysfibrinogenemia: emerging abnormal structure associations with pathologic and nonpathologic dysfunctions. *Semin Thromb Hemost* 1993;19:386-95.
  67. Gabriel DA, Muga K, Boothroyd EM. The effect of fibrin structure on fibrinolysis. *J Biol Chem* 1992;267:24259-63.
  68. Carr ME, Jr., Alving BM. Effect of fibrin structure on plasmin-mediated dissolution of plasma clots. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1995;6:567-73.
  69. Collet JP, Soria J, Mirshahi M, Hirsch M, Dagonnet FB, Caen J, Soria C. Dusart syndrome: a new concept of the relationship between fibrin clot architecture and fibrin clot degradability: hypofibrinolysis related to an abnormal clot structure. *Blood* 1993;82:2462-3469.
  70. Lijnen HR, Soria J, Soria C, Collen D, Caen JP. Dysfibrinogenemia (fibrinogen Dusard) associated with impaired fibrin-enhanced plasminogen activation. *Thromb Haemost* 1984;51:108-9.
  71. Mosesson MW, Siebenlist KR, Hainfeld J, Wall JS, Soria J, Soria C, Caen JP. The relationship between the fibrinogen D domain self-association/cross-linking site (gammaXL) and the fibrinogen Dusart abnormality (Aalpha R554C-albumin): clues to thrombophilia in the "Dusart syndrome". *J Clin Invest* 1996;97:2342-50.
  72. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briet E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case-control study of plasma levels and DNA polymorphisms—the Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost* 1994;71:719-22.
  73. Kamphuisen PW, Eikenboom JC, Vos HL, Pablo R, Sturk A, Bertina RM, Rosendaal FR. Increased levels of factor VIII and fibrinogen in patients with venous thrombosis are not caused by acute phase reactions. *Thromb Haemost* 1999;81:680-3.
  74. Eaton DL, Malloy BE, Tsai SP, Henzel W, Drayna D. Isolation, molecular cloning, and partial characterization of a novel carboxypeptidase B from human plasma. *J Biol Chem* 1991;266:21833-8.
  75. Campbell W, Okada H. An arginine specific carboxypeptidase generated in blood during coagulation or inflammation which is unrelated to carboxypeptidase N or its subunits. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;162:933-9.
  76. Bajzar L, Morser J, Nesheim M. TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. *J Biol Chem* 1996;271:16603-8.
  77. Wang W, Boffa MB, Bajzar L, Walker JB, Nesheim ME. A study of the mechanism of inhibition of fibrinolysis by activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem* 1998;273:27176-81.
  78. Tsai SP, Drayna D. The gene encoding human plasma carboxypeptidase B (CPB2) resides on chromosome 13. *Genomics* 1992;14:549-50.
  79. Vanhoof G, Wauters J, Schatteman K, Hendriks D, Goossens F, Bossuyt P, Scharpe S. The gene for human carboxypeptidase U (CPU)—a proposed novel regulator of plasminogen activation—maps to 13q14.11. *Genomics* 1996;38:454-5.
  80. Nagashima M, Werner M, Wang M, Zhao L, Light DR, Pagila R, Morser J, Verhallen P. An inhibitor of activated thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor potentiates tissue-type plasminogen activator-induced thrombolysis in a rabbit jugular vein thrombolysis model. *Thromb Res* 2000;98:333-42.
  81. Henry M, Aubert H, Morange PE, Nanni I, Alessi MC, Tiret L, Juhan-Vague I. Identification of polymorphisms in the promoter and the 3' region of the TAFI gene; evidence that plasma TAFI antigen levels are strongly genetically controlled. *Blood* 2001;97:2053-8.
  82. van Tilburg NH, Rosendaal FR, Bertina RM. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and the risk for deep vein thrombosis. *Blood* 2000;95:2855-9.
  83. Wiman B. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost* 1995;74:71-6.
  84. Juhan-Vague I, Valadier J, Alessi MC, Aillaud MF, Ansaldi J, Phillip-Joet C, Holvoet P, Serradimigni A, Collen D. Deficient t-PA release and elevated PA inhibitor levels in patients with spontaneous or recurrent deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1987;57:67-72.
  85. Engesser L, Brommer EJ, Kluff C, Briet E. Elevated plasminogen activator inhibitor (PAI), a cause of thrombophilia? A study in 203 patients with familial or sporadic venous thrombophilia. *Thromb Haemost* 1989;62:673-80.
  86. Camerer E, Kolsto AB, Prydz H. Cell biology of tissue factor, the principal initiator of blood. *Thromb Res* 1996;81:1-41.
  87. Bauer KA. Activation of the factor VII-tissue factor pathway. *Thromb Haemost* 1997;78:108-11.
  88. Ruf W, Edgington TS. Structural biology of tissue factor, the initiator of thrombogenesis in vivo. *Faseb J* 1994;8:385-90.
  89. Carson SD, Henry WM, Shows TB. Tissue factor gene localized to human chromosome 1 (1pter----1p21). *Science* 1985;229:991-3.
  90. Mackman N. Regulation of the tissue factor gene. *Thromb Haemost* 1997;78:747-54.
  91. Wada H, Nakase T, Nakaya R, Minamikawa K, Wakita Y, Kaneko T, Ohiwa M, Deguchi K, Shirakawa S. Elevated plasma tissue factor antigen level in patients with disseminated intravascular coagulation. *Am J Hematol* 1994;45:232-6.
  92. Hamaguchi M, Morishita Y, Takahashi I, Ogura M, Takamatsu J, Saito H. FDP D-dimer induces the secretion of interleukin-1, urikinasin-type plasminogen activator, and plasminogen activator inhibitor-2 in a human promonocytic leukemia cell line. *Blood* 1991;77:94-100.
  93. Scagnol I, Fumagalli G, Colucci M, Semeraro N. Induction of venous thrombosis by monocytes procoagulant activity in rabbits. *Thromb Haemost* 1991;65:1086.
  94. Arnaud E, Barbalat V, Nicaud V, Cambien F, Evans A, Morrison C, Arveiler D, Luc G, Ruidavets JB, Emmerich J, Fiessinger JN, Aiach M. Polymorphisms in the 5' regulatory region of the tissue factor gene and the risk of myocardial infarction and venous thromboembolism: the ECTIM and PATHROS studies. *Etude Cas-Temoins de l'Infarctus du Myocarde. Paris Thrombosis case-control Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:892-8.
  95. Esmon CT, Xu J, Gu J-M, Qu D, Laszik Z, Ferrell G, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Taylor FB, Esmon NL. Endothelial Protein C Receptor. *Thromb Haemost*. 1999;82:251-8.
  96. Merati G, Biguzzi F, Oganessian N, Fétiqueau D, Qu Bucciarelli DJ, Stearns-Kurosawa PM, M, MP, Esmon CT, Faioni EM. A 23bp insertion in the endothelial protein C cell receptor (EPCR) gene in patients with myocardial infarction and deep vein thrombosis [abstract]. *Thromb Haemost* 1999;8:507.
  97. von Depka M, Czwalinna A, Eisert R, Wermes C, Scharrer I, Ganser A, Ehrenforth S. Prevalence of a 23 bp insertion in exon 3 of the endothelial cell protein C receptor gene in venous thrombophilia. *Thromb Haemost* 2001;submitted.