

KLINISCHER NUTZEN UNREIFER THROMBOZYTEN

Differentialdiagnose von Thrombozytopenien

Thrombozytopenie und automatisierte Thrombozytenzählung

Weist ein Patient eine abnorm niedrige Konzentration der Thrombozyten auf – z. B. unterhalb des Referenzbereiches für Erwachsene von $150 \times 10^9/L$ bis $450 \times 10^9/L$ – spricht man von einer Thrombozytopenie. Bei besonders schwerer Thrombozytopenie mit Konzentrationen unterhalb $20 \times 10^9/L$ besteht das Risiko spontaner (d. h. nicht verletzungsbedingter) Blutungen. Eine schwere Thrombozytopenie zu übersehen kann schwerwiegende Konsequenzen für den Patienten haben. Die zuverlässige Bestimmung der Thrombozytenkonzentration ist daher von essentieller Bedeutung, die klinisch wichtigen Entscheidungen mit Zuversicht zu treffen.

Allerdings ist die genaue Messung gerade von thrombozytopenischen Proben nicht immer ganz einfach und kann für ein medizinisches Labor eine Herausforderung darstellen. Sysmex bietet mit dem Messkanal PLT-F eine einfach verfügbare Lösung an. Weitere Hinweise dazu im Abschnitt »Herausforderungen bei der genauen und präzisen Messung der Thrombozytenkonzentration«.

Ätiologie der Thrombozytopenie

Auch wenn sich die Thrombozytopenie durch niedrige Thrombozytenkonzentrationen definiert, so erklären die Konzentrationen allein nicht die zugrundeliegenden Ursachen, die erblich bedingt oder erworben sein können. Sie können grob in zwei Hauptgruppen unterteilt werden: verringerte Neuproduktion im Knochenmark oder erhöhter Abbau oder Verbrauch im peripheren Blut. Die klinische Fragestellung ist häufig, ob der Thrombozytopenie ein Knochenmarkversagen zugrunde liegt, wie es bei Aplastischer Anämie (AA) oder Myelodysplastischem Syndrom (MDS) beobachtet wird, oder erhöhter Abbau/Verbrauch wie bei Immunthrombozytopenie (ITP), Thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura (TTP) oder Disseminierter Intravasaler Koagulopathie (DIC). Traditionell werden gewöhnlich hochinvasive Knochenmarkbiopsien empfohlen, um die Ätiologie zu klären.

Differentialdiagnose von Thrombozytopenien

Die Differentialdiagnose von Thrombozytopenien ist komplex und verlangt nach einer Untersuchung der medizinischen Vorgeschichte des Patienten, eine Evaluation

der klinischen Symptome, Funktionstests der Thrombozyten und eine Messung von blutbasierten Thrombozyten-Parametern. Traditionell benutzen viele Kliniker das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV) als Surrogatmarker für die Thrombopoese, da unreife Thrombozyten tendenziell größer sind als reife. Das Auftreten von Fragmentozyten, Mikrozyten oder anderen Partikeln mit einem Volumen ähnlich dem von Thrombozyten kann aber die Zuverlässigkeit des MPV beeinträchtigen. Hinzu kommt, dass gerade bei niedriger Thrombozytenkonzentration, also gerade dann, wenn Informationen über die Thrombozytenproduktion besonders wichtig ist, das MPV häufig unpräzise oder gar nicht zu bestimmen ist.

Die Fraktion unreifer Thrombozyten (immature platelet fraction, IPF) ist ein besserer Marker der Thrombozytenproduktion und kennzeichnet den prozentualen Anteil der unreifen Thrombozyten an der Gesamtmenge aller Thrombozyten. Sie wurde zuerst von Ault *et al.* 1992 beschrieben, die dafür den Begriff »retikulierte Plättchen« als Beschreibung für die neu produzierten Thrombozyten mit erhöhtem RNA-Gehalt einführten, deren Zahl mit der Aktivität der Megakaryozyten korrelierte [1]. IPF ist ein reproduzierbarer Parameter, der gut mit den per CD61-Durchflusszytometrie bestimmten Konzentrationen retikulierter Plättchen korreliert [2]. Wenn es auch nur eine schwache Korrelation mit dem MPV gibt, sind unreife Thrombozyten doch tendenziell größer als reife: eine Studie fand 61% der retikulierten Plättchen in dem Terzil der größten Thrombozyten, mit 32% und 7% im mittleren, respektive im kleinsten Terzil [3]. Darüber hinaus sind unreife Thrombozyten reaktiver als reife. Sie enthalten höhere

IPF-Referenzintervalle

Mehrere Studien haben Referenzintervalle für IPF auf Sysmex XE- und XN-Serien bestimmt [4–12]. Im Großen und Ganzen besteht eine gute Übereinstimmung dieser Studien mit einem Referenzintervall von ca. 1,1–6,1%. Eine weitere Studie etablierte ein Referenzintervall für Neugeborene von 0,7%–7,9% [13]. Allerdings sollten Referenzintervalle immer auf Anwendbarkeit in einer bestimmten Patientengruppe überprüft werden, so wie die International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine das empfiehlt [14].

Thrombozytopenie mit erhöhter IPF kann auf verstärkten Abbau oder Verbrauch von Thrombozyten im peripheren Blut oder auch auf erbliche Makrothrombozytopenie hinweisen.

Thrombozytopenie mit normalem oder niedrigem IPF kann auf eingeschränkte Thrombozytenproduktion im Knochenmark hinweisen.

Mengen an RNA und sind in der Lage, verschiedene Proteine typisch für aktivierte Thrombozyten zu produzieren (z. B. GPIIb / IIIa oder P-Selectin) [3].

Mehrere Publikationen haben gezeigt, dass der auf den Analysensystemen der Sysmex XE- und XN-Serien gemessene IPF höher bei Patienten mit durch erhöhten Abbau bedingter Thrombozytopenie ist, als bei Patienten mit verringerter Thrombozytenproduktion im Knochenmark [2, 5, 10–12, 15–19]. Zum Beispiel:

- Briggs *et al.* (2004) beobachteten Patienten mit ITP und TTP, die beide durch erhöhten Thrombozytenverbrauch bzw. -abbau bestimmt werden: IPF war in beiden Gruppen deutlich erhöht, aber normal in Patienten unter Chemotherapie (mit eingeschränkter Knochenmarkaktivität) und ITP- und TTP-Patienten in Remission (Abb. 1) [10].
- Kickler *et al.* (2006) berichteten hohe IPF-Werte in thrombozytopenischen Patienten mit erhöhtem Thrombozytenabbau und normale bis leicht erhöhte Werte für Patienten mit reduzierter Thrombozyten-Neubildung (Tabelle 1) [11].
- Abe *et al.* (2006) konnten unter Verwendung eines Cut-off-Wertes von 7,7% eine Sensitivität von 86,8% und eine Spezifität von 92,6% für die Differenzialdiagnose zwischen ITP und AA erreichen. Sie zeigten zudem, dass IPF bei der Differenzierung signifikant aussagekräftiger als das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV) war [15].
- Jung *et al.* (2010) fanden für IPF in ITP-Patienten höhere Werte als in AA-Patienten und dass ein Cut-off-Wert von 7,3% verwendet werden konnte, um mit einer Sensitivität von 54,0% und einer Spezifität von 92,2% zwischen den beiden Erkrankungen zu unterscheiden [12]. (Die niedrigere Sensitivität verglichen mit der Studie von Abe *et al.* könnte durch unterschiedliche Patientengruppen erklärbar sein: Patienten mit akuter ITP haben gewöhnlich hohe IPF-Werte, während Patienten in Remission auch normale IPF-Werte aufweisen können.)
- Strauss *et al.* (2011) untersuchten Kinder mit Thrombozytopenie und beobachteten, dass IPF bei Kindern mit eingeschränkter Thrombozytenproduktion niedrig war, während es bei ITP-Patienten erhöht war und einen erhöhten Thrombozytenumsatz anzeigte [17].

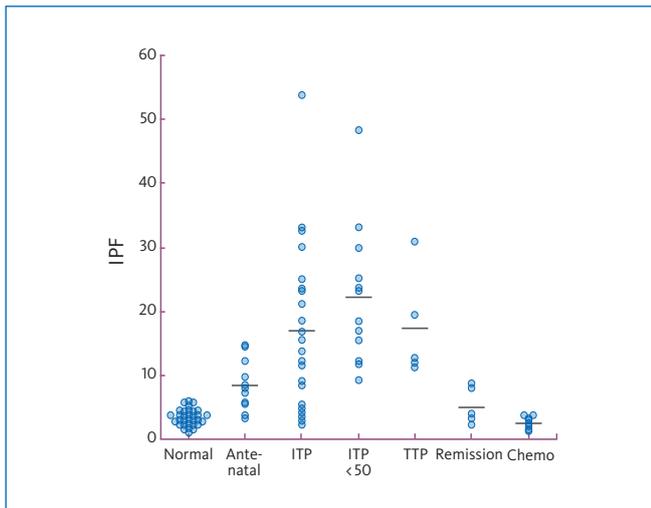


Abb. 1 IPF-Werte verschiedener Patientengruppen. ITP: Immun-Thrombozytopenie; ITP < 50: ITP-Patienten mit einer PLT-Konzentration unter $50 \times 10^9/L$; TTP: thrombotisch-thrombozytopenische Purpura; Chemo: Patienten unter Chemotherapie. Bearbeitet nach Briggs et al. [10].

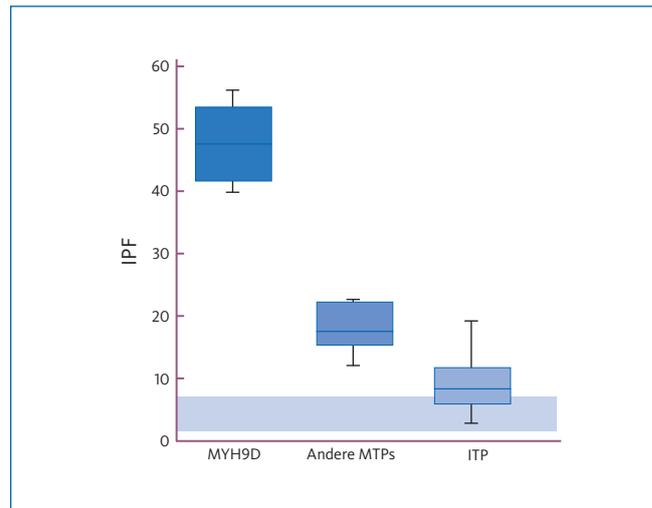


Abb. 2 IPF-Werte verschiedener Patientengruppen. MYH9D: MYH9D-Erkrankungen; MTPs: Makrothrombozytopenien; ITP: Immun-Thrombozytopenie. Bearbeitet nach Miyazaki et al. [21].

Tabelle 1 IPF-Werte verschiedener Patientengruppen. ITP: Immunthrombozytopenie; DIC: Disseminierte intravasale Koagulopathie; AA: aplastische Anämie; PNH: paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie; p*: statistischer p-Wert verglichen mit gesunden Kontrollen; NS: statistisch nicht signifikant verglichen mit Kontrollen. Bearbeitet nach Kickler et al. [11].

Probanden	Stichprobenumfang	Mittelwert	p*
Gesund	80	3,1	–
Abbau			
ITP	37	15,0	<,0001
DIC	25	9,5	<,0001
Abbau gesamt	62	12,8	<,0001
Unterdrückt			
AA/PNH	3	6,1	,019
Krebs	16	3,8	NS
Unterdrückt gesamt	19	4,1	,05

■ Sakuragi et al. (2015) konnten bei IPF aus der XN-Serie eine höhere Präzision und weniger effektive Störfaktoren beobachten als bei IPF aus der XE-Serie. Mit einem Cut-off von 5,8% konnten sie eine Sensitivität von 85,1% und eine Spezifität von 89,3% in der Unterscheidung zwischen ITP und aplastischer Thrombozytopenie erreichen [19].

Zusammenfassend ermöglicht der Parameter IPF eine Abschätzung der Produktion von Thrombozyten im Knochenmark und hilft bei der Differenzierung zwischen Thrombozytopenien, die von eingeschränkter Neuproduktion bedingt werden von solchen, die durch erhöhten Abbau / Verbrauch bedingt werden. Er liefert zusätzliche Informationen und kann helfen, eine invasive Knochenmarkbiopsie zu vermeiden.

Die Bedeutung von IPF für die Differentialdiagnose von erblicher Thrombozytopenie

IPF kann auch zur Differentialdiagnose vermuteter erblicher Thrombozytopenien beitragen. Erbliche Thrombozytopenie wird gewöhnlich bei Beobachtung einer Thrombozytopenie bei Neugeborenen vermutet, bei plötzlichem Auftreten von Blutungssymptomen in der Kindheit, einer familiären Vorgeschichte von Thrombozytopenien oder wenn die Thrombozytenkonzentration nicht auf ITP-Behandlung anspricht. Oft wird das MPV für die Differentialdiagnose erblicher Thrombozytopenien verwendet [20], ist aber, wie bereits geschildert, von zahlreichen Störfaktoren beeinträchtigt und in Proben mit sehr niedriger Thrombozytenkonzentration oft nur unpräzise oder gar nicht zu bestimmen.

Mehrere neuere Publikationen beschreiben, wie IPF zur Differentialdiagnose von erblichen Thrombozytopenien beitragen kann. Miyazaki et al. (2015) zeigten zum Beispiel, dass IPF in May-Hegglin-MYH9-Erkrankungen fünfmal höher ist ($48,6\% \pm 1,9$) und in anderen makrothrombozytopenischen Erkrankungen verdoppelt ($18,4\% \pm 2,1$) verglichen mit Patienten mit ITP mit ähnlichen Gesamtkonzentrationen der Thrombozyten ($9,2\% \pm 0,3$) (Abb. 2) [21]. Dagegen hatten Patienten mit Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS), einer erblichen mikrothrombozytopenischen Erkrankung, einen niedrigeren IPF-Wert, als man anhand der Schwere ihrer Thrombozytopenie vermuten könnte, und ihr IPF war niedriger als bei ITP-Patienten [22]. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei sieben Kindern mit WAS beobachtet, die eine niedrigere Konzentration unreifer Thrombozyten hatten als altersgleiche Patienten mit chronischer ITP [23].

Herausforderungen bei der genauen und präzisen Messung der Thrombozytenkonzentration

Automatisierte Hämatologie-Analysesysteme liefern auf der Basis der Impedanz-Methode (PLT-I) eine im Allgemeinen genaue und präzise Messung der Thrombozytenkonzentration. Bestimmte Partikel können jedoch diese Messung stören und zu hohe Werte vortäuschen. Bei besonders schwerer Thrombozytopenie ($PLT \leq 20 \times 10^9/L$) ist dagegen die Präzision eingeschränkt, da nur eine relativ kleine Anzahl von Zellen in die Analyse einfließt. Um diese Probleme zu lösen, können Systeme der XN-Serie Reflex-Messungen auslösen, bei denen alternative Messmethoden verwendet werden (PLT-O oder PLT-F), falls störende Partikel oder schwere Thrombozytopenie vermutet werden (Tabelle 2).

In XN-Systemen, die mit PLT-I und PLT-O ausgestattet sind, entscheidet ein Umschalt-Algorithmus, ob eine PLT-O-Messung notwendig ist, um eine zuverlässige Thrombozytenkonzentrationsmessung durchzuführen. In Systemen, die mit PLT-I und PLT-F ausgestattet sind, kann eine PLT-F-Reflex-Messung als notwendig erscheinen und wird automatisch ausgelöst. Besonders bei Verdacht auf eine schwere Thrombozytopenie ist eine präzisere Messung notwendig, um zuverlässige Messwerte als Grundlage für klinisch wichtige Entscheidungen zu erhalten. Hier wäre PLT-F die Methode der Wahl.

Tabelle 2 Vergleich verschiedener Thrombozytenzähl-Methoden der Sysmex XN-Serie

	Impedanz-Zählung (PLT-I)	Optische Zählung (PLT-O)	Fluoreszenz-Zählung (PLT-F)
Workflow	Standard- und Routine-Messmethode	Oft eine Reflex-Methode	Oft eine Reflex-Methode
Analyse	Teil des großen Blutbilds	Teil der Retikulozyten-Messung	Spezielle Thrombozyten-Messung
Präzision, Genauigkeit und Störfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> ■ Niedrige Präzision, wenn $PLT < 20 \times 10^9/L$ ■ Niedrige Genauigkeit für Proben mit Störfaktoren: Partikel mit einem Volumen ähnlich dem von Thrombozyten enthaltend (Reagenz-Kristalle, Luftbläschen, Mikrozyten, RBC-Fragmente) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Niedrige Präzision, wenn $PLT < 20 \times 10^9/L$ ■ Hohe Genauigkeit auch bei Anwesenheit von Störpartikeln aus abnormalen RBC ■ Niedrige Genauigkeit bei Proben mit WBC-Fragmenten (aus Apoptose / Nekrose) 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Hohe Präzision bis $PLT = 3 \times 10^9/L$ aufgrund fünffachem ausgezähltem Volumen ■ Praktisch keine Interferenzen ■ Vergleichbar mit Referenzmethode (CD41 / CD61) [24, 25]
Diagnostische Parameter über die PLT-Konzentration hinaus	PDW, MPV, PCT, P-LCR	Keine	IPF, IPF#

Schlussfolgerung und klinische Interpretation

PLT allein sagt nichts über die zugrundeliegende Ätiologie einer Thrombozytopenie aus. Die Ursachen einer solchen können in verringerter Neuproduktion im Knochenmark oder verstärktem Abbau bzw. Verbrauch von Thrombozyten im peripheren Blut liegen. IPF ist ein etablierter Parameter, der behandelnden Ärzten Hinweise geben kann, wenn sie die Ursache einer Thrombozytopenie basierend auf der Ätiologie verschiedener erblicher oder erworbener Erkrankungen mit thrombozytopenischer Symptomatik aufklären wollen, wie in diesem White Paper beschrieben.

Ein hoher IPF legt konsumtive Erkrankungen oder erbliche Makrothrombozytopenie nahe, kann aber auch eine angemessene physiologische Reaktion des Knochenmarks auf Thrombozytopenie anzeigen. Im Gegenzug wird ein normaler oder niedriger IPF in aplastischen Zuständen beobachtet (Tabelle 3). IPF-Messungen können für bestimmte Patienten explizit angefordert werden oder aber als Reflex-Messung bei Patienten mit unklarer Thrombozytopenie automatisch durch das Analysesystem selbst veranlasst werden.

Tabelle 3 Ätiologie der Thrombozytopenie und assoziierte IPF-Werte. Die Bereiche in der Tabelle dienen nur zur Orientierung. Die Interpretation der IPF-Werte sollte immer im gesamten klinischen Kontext erfolgen, einschließlich klinischer Symptome und anderer Labortests.

Erworben		Erblich
Unzureichende Thrombozyten-Neubildung	Verstärkter Abbau/Verbrauch	Erbliche Makrothrombozytopenie
IPF 1,1 – 6,1%	IPF > 6,1%	IPF > 12%
Beeinträchtigung des Knochenmarks <ul style="list-style-type: none"> ■ Myelodysplastisches Syndrom ■ Neoplastische Infiltration des Knochenmarks ■ Aplastische Anämie verursacht durch Chemikalien, Wirkstoffe oder Infektionen ■ Chronische ITP mit apoptotischen Megakaryozyten 	Immunsystem-vermittelte Ursachen <ul style="list-style-type: none"> ■ Immunthrombozytopenie (ITP) ■ Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) Typ II 	IPF > 12 % <ul style="list-style-type: none"> ■ Bernard-Soulier-Syndrom ■ ACTN1-assoziierte Thrombozytopenie ■ αδ-Storage-Pool-Disease ■ Variante der Glanzmann-Thrombasthenie
Unzureichende Neubildung <ul style="list-style-type: none"> ■ Megaloblastäre Anämie 	Nicht immunsystem-vermittelte Ursachen <ul style="list-style-type: none"> ■ Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP) ■ Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) ■ Disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC) ■ HIT Typ I ■ Blutung 	IPF > 40 % <ul style="list-style-type: none"> ■ May-Hegglin MYH9 Erkrankungen

Literatur

- [1] **Ault A et al.** (1992): The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. *Am J Clin Pathol.* 98(6): 637–46.
- [2] **Pons I et al.** (2010): Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia. *Eur J Haematol.* 85(2):158–63.
- [3] **Guthikonda S et al.** (2008): Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 52(9):743–9.
- [4] **Zucker MJ et al.** (2006): Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation. *Lab Hematol.* 12(3): 125–30.
- [5] **Cho YG et al.** (2007): Clinical usefulness of the simple technique to diagnose thrombocytopenia using immature platelet fraction. *Korean J Lab Med.* 27(1):1–6.
- [6] **Pekelharing JM et al.** (2010): Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex J Int.* 20(1):1–11.
- [7] **Ko YJ et al.** (2013): Establishment of reference interval for immature platelet fraction. *Int J Lab Hematol.* 35(5):528–33.
- [8] **Sysmex Corporation** (2014): Reference ranges analysis document for XN series.
- [9] **Seo A et al.** (2015): Reference intervals for immature platelet fraction and immature platelet count. *Int J Lab Hematol.* 37(1):e1–2.
- [10] **Briggs C et al.** (2004): Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 126(1):93–9.
- [11] **Kickler T et al.** (2006): A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol.* 125(2): 282–7.
- [12] **Jung H et al.** (2010): Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. *Korean J Lab Med.* 30(5):451–9.
- [13] **Cremer M et al.** (2004): Immature platelet fraction as novel laboratory parameter predicting the course of neonatal thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 144(4):619–21.
- [14] **Solberg HE.** (2004): The IFCC recommendation on the estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med.* 42(7):710–4.
- [15] **Abe Y et al.** (2006): A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res.* 118(4):463–9.
- [16] **Cannavo I et al.** (2010): Assessment of an immature platelet fraction (IPF%) in the diagnosis of thrombocytopenia. *Ann Biol Clin (Paris).* 68(4): 415–20.
- [17] **Strauss G et al.** (2011): Immature platelet count: a simple parameter for distinguishing thrombocytopenia in pediatric acute lymphocytic leukemia from immune thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer.* 57(4): 641–7.
- [18] **Adly AA et al.** (2015): Evaluation of the immature platelet fraction in the diagnosis and prognosis of childhood immune thrombocytopenia. *Platelets.* 26(7): 645–50.
- [19] **Sakuragi M et al.** (2015): Clinical significance of IPF% or RP% measurement in distinguishing primary immune thrombocytopenia from aplastic thrombocytopenic disorders. *Int J Hematol.* 101(4): 369–75.
- [20] **Cremer M et al.** (2016) Thrombocytopenia and platelet transfusion in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med.* 21(1):10–8.
- [21] **Miyazaki K et al.** (2015): Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia. *Hematology.* 20(10):587–92.
- [22] **Sokolic R et al.** (2015): Assessment of immature platelet fraction in the diagnosis of Wiskott-Aldrich syndrome. *Front Pediatr.* 3:1–10.
- [23] **Gerrits AJ et al.** (2015): Effects of eltrombopag on platelet count and platelet activation in Wiskott-Aldrich syndrome/X-linked thrombocytopenia. *Blood* 126(11):1367–78.
- [24] **Tanaka Y et al.** (2014): Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers. *J Clin Lab Anal.* 28(5):341–8.
- [25] **Park S et al.** (2014): The Sysmex XN-2000 Hematology Autoanalyzer Provides a Highly Accurate Platelet Count than the Former Sysmex XE-2100 System Based on Comparison with the CD41/CD61 Immuno-platelet Reference Method of Flow Cytometry. *Ann Lab Med.* 34(6): 471–4.

Profitieren Sie von weiteren Hintergrundinformationen in unseren frei zugänglichen White Papers:
www.sysmex.de/whitepaper
www.sysmex.ch/whitepaper
www.sysmex.at/whitepaper

Sysmex Deutschland GmbH

Bornbarch 1, 22848 Norderstedt, Deutschland · Telefon +49 40 534102-0 · Fax +49 40 5232302 · info@sysmex.de · www.sysmex.de

Sysmex Suisse AG

Tödistrasse 50, 8810 Horgen, Schweiz · Telefon +41 44 718 38 38 · Fax +41 44 718 38 39 · info@sysmex.ch · www.sysmex.ch

Sysmex Austria GmbH

Odoakergasse 34–36, 1160 Wien, Österreich · Telefon +43 1 4861631 · Fax +43 1 486163125 · office@sysmex.at · www.sysmex.at

Die für Ihre Region zuständige Sysmex Niederlassung finden Sie unter www.sysmex-europe.com/contacts