

Die Detektion einer mikroangiopathischen hämolytischen Anämie (MAHA) mit Hilfe automatisierter Blutbildparameter des XE-5000

Einleitung

Etablierte und neue Laborparameter leisten heute einen wesentlichen Beitrag zur schnellen Erkennung und Behandlung schwerer Erkrankungen. Bei unbekanntem, thrombozytopenischen Patienten entsteht folgende Fragestellung:

- Muss schnell eine Therapie eingeleitet werden und, wenn ja, welche?
- Was ist die Ursache für die Thrombozytopenie?
 - Verbrauchs- oder Produktionsproblem?
 - Differentialdiagnose?

Bei mikroangiopathischen, hämolytischen Anämien muss eine möglichst rasche Antwort auf oben genannte Fragestellung gefunden werden, da nur eine rechtzeitige Intervention schwere Organschäden oder ein Versterben des Patienten verhindern kann. Dass hier Laborwerte, wie der Anteil unreifer Thrombozyten, Fragmentozyten, Retikulozyten und deren unreifer Anteil, gemessen am XE-5000 und interpretiert über den Case Manager, unterstützen können, zeigt der Fall des Halbjahres.

Fall des Halbjahres

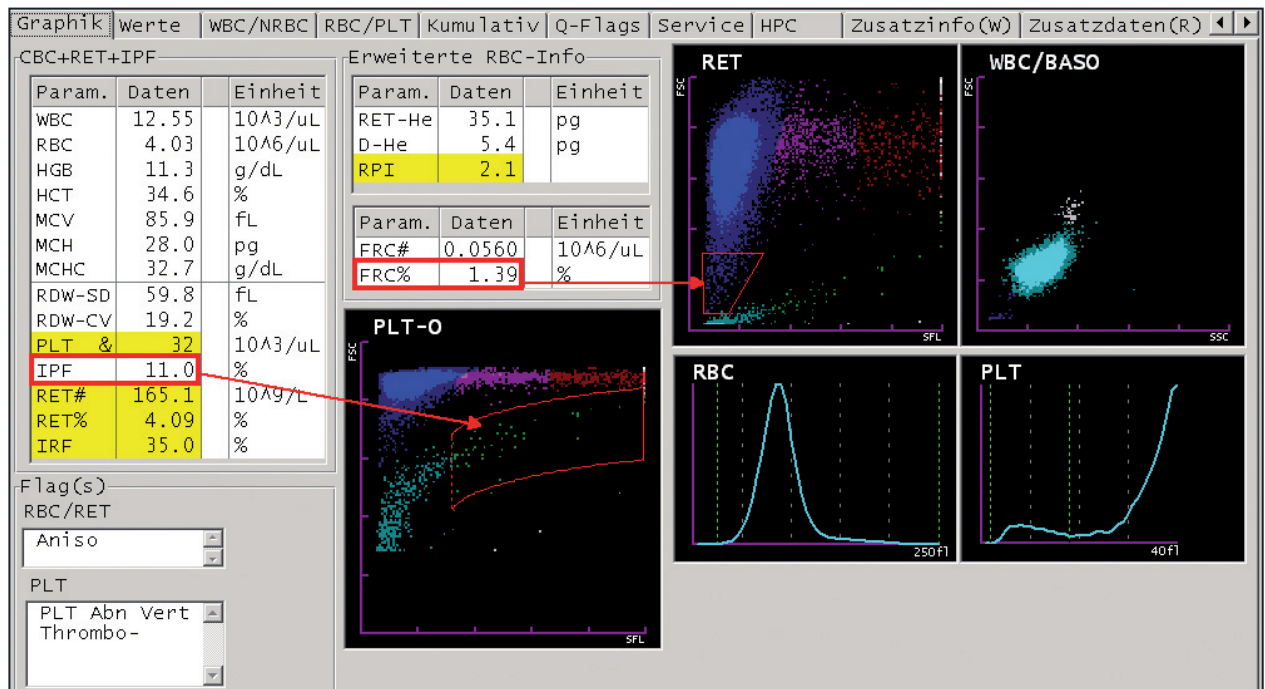


Abb. 1 Kleines Blutbild mit Retikulozytenprofil; zusätzlich im roten Rahmen sichtbar: prozentualer Anteil an unreifen Thrombozyten (IPF) und Fragmentozyten (FRC%) – gemessen am XE-5000

Gezeigt wird der Fall einer 35-jährigen Frau, die mit Fieber (38,7 °C) und starken Kopfschmerzen nachts in der Notaufnahme eingeliefert wird. Das Laboraufnahmeprofil zeigt eine stark ausgeprägte Thrombozytopenie (32.000/μL) bei ansonsten eher unauffälligem Blutbild. Das CRP ist erhöht (18 mg/L), ebenso die LDH (580 U/L). Die zusätzliche Bestimmung des Blutbildes mit Retikulozytenprofil am xE-5000 (siehe Abbildung 1) liefert hier weitere wichtige Informationen zur Differentialdiagnose.

Thrombozytopenie

Basisinformation und allgemeine Diagnostik

Eine Verminderung der Thrombozyten kann die Folge einer Störung der Thrombozytenbildung (z. B. bei infiltrativen oder hypoplastischen Knochenmarkserkrankungen) oder eines beschleunigten Abbaus (z. B. MAHA) sein. Bei der letztgenannten Form erkennt man im Ausstrich einen hohen Anteil besonders großer (unreifer) Thrombozyten (siehe Abbildung 2).

Darüber hinaus ist eine Methode zur Quantifizierung dieser unreifen Thrombozyten im peripheren Blut mit dem xE-5000 verfügbar (siehe Abbildung 3).

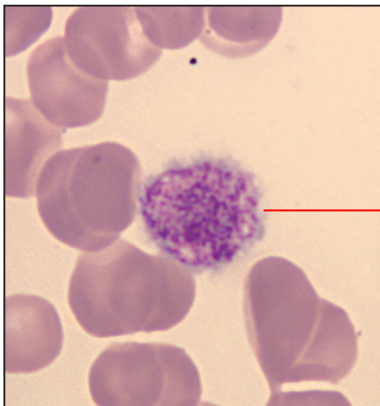


Abb. 2 Riesenthrombozyt im peripheren Blutausstrich

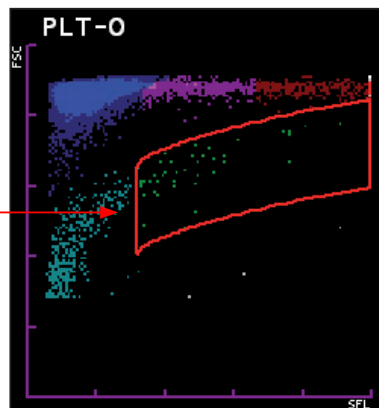


Abb. 3 Unreife Thrombozyten – gemessen am xE-5000 mittels Fluoreszenz-Durchflusssytometrie

- Anteil unreifer Thrombozyten (IPF, Immature Platelet Fraction): Eine Erhöhung bei gleichzeitiger Thrombozytopenie spricht für einen erhöhten Thrombozytenverbrauch. Normalwert: 1,1 - 6,1%; Anteil bei der Patientin: 11%. Damit wird eine Unterscheidung oben genannter Mechanismen möglich.

Der Grad der Blutungsneigung entspricht etwa dem Ausmaß der Thrombozytenverminderung (Abb. 4), wird aber durch höheres Lebensalter oder eine Thrombozytenfunktionsstörung, verursacht z. B. durch Medikamente wie ASS, verstärkt. Thrombozytopenien durch Bildungsstörungen bewirken eine stärkere Blutungsneigung als eine gleich starke Thrombozytopenie durch erhöhte periphere Destruktion.

Thrombozytenzahl ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	Klinische Manifestation
> 100	keine Blutungsneigung
50 – 100	verstärkte Blutung bei Verletzungen
30 – 50	verstärkte Hautblutungen bei Mikrotraumen, diskrete petechiale Blutungen an prädisponierten Körperpartien
< 30	zunehmende Petechien am ganzen Körper, Haut- und Schleimhautblutungen, Gefahr zerebraler und intestinaler Blutungen

Abb. 4 Klinische Ausprägung einer Thrombozytopenie in Abhängigkeit von der Thrombozytenzahl

Leitsymptome der Thrombozytopenie

Petechien, Schleimhautblutungen, Menorrhagie und/oder eine »zufällig« festgestellte Verminderung der Thrombozytenzahl

Diagnostik der Thrombozytopenie (nach Ausschluss einer Pseudothrombozytopenie)

- Anamnese: Medikamente, Infektsymptome, HIV-Risikogruppe, familiäre Blutungsneigung?
- Klinische Untersuchung auf Milz-, Leber- oder Lymphknotenvergrößerung, neurologische oder kardiovaskuläre Symptome, Fieber, Haut- und /oder Schleimhautblutungen, Blutungen im Augenhintergrund
- Fragestellung an das Labor: Fragmentozyten im peripheren Blut, Retikulozytenzahl erhöht?
 - Retikulozyten und deren unreifer Anteil (*IRF, Immature Reticulocyte Fraction*)
Normalwert 1,5 - 13,4 %; Anteil bei der Patientin: 35 % bzw.
 - RPI (Retikulozyten-Produktionsindex)
Ein Index > 2 belegt eine gesteigerte Produktion, was für eine gesteigerte Erythrozyten-destruktion sprechen kann. Index der Patientin: 2,1
 - Fragmentozyten (*FRC, Fragmented Red Cells*)
Eine Erhöhung belegt die gesteigerte Erythrozytendestruktion. Normal sind 0,03 - 0,56 %; Anteil bei der Patientin: 1,39 % (siehe Abbildungen 5 und 6).
 - Bestimmung der Hämolyseparameter
 - Gerinnungsstatus (Ausschluss einer disseminierten intravasalen Gerinnung)
 - Hinweise auf Leukämie, hereditäre Thrombozytopenie, Mikrohämaturie und/oder Hämoglobinurie?



Abb. 5 Fragmentozyt im peripheren Blutausstrich – deutlich erkennbar ist die intakte untere Seite und die abgerissene obere Kante

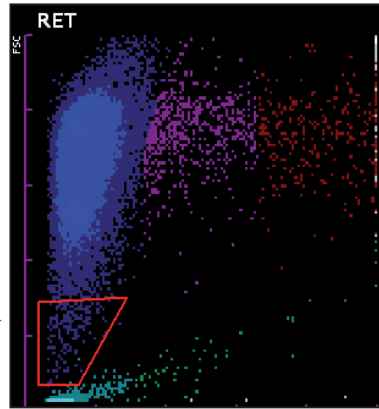


Abb. 6 Fragmentozyten – gemessen am XE-5000 mittels Fluoreszenz-Durchflusszytometrie

Nach Feststellung einer Thrombozytopenie müssen durch klinische und technische Untersuchungen Grunderkrankungen ausgeschlossen oder bewiesen werden, bei denen eine Verminderung der Plättchenzahl als Teilstörung oder begleitende Regulationsstörung vorkommt.

Da bei der Patientin alle notwendigen diagnostischen Bedingungen für eine Plasma-

austauschtherapie erfüllt sind, wird diese wenige Stunden nach der Einlieferung gestartet. Nach den ersten 3 Behandlungen an aufeinander folgenden Tagen mit jeweils 40 mL Frischplasma pro Kilogramm Körpergewicht wird ein Thrombozytenanstieg auf 170.000/μL erreicht. Die spätere Untersuchung einer vor der Therapie abgenommenen Citratplasmaprobe ergibt eine stark verminderte Aktivität der von-Willebrand-Faktor spaltenden Protease ADAMTS 13. Dies ist der Beweis für eine MAHA vom Typ Thrombotisch Thrombozytopenische Purpura.

Information zur Thrombotischen Thrombozytopenischen Purpura (TTP)

Die TTP ist ein seltenes (Vorkommen 1 : 1.000.000), pathogenetisch uneinheitliches Krankheitsbild, das man mit dem Begriff »Thrombotische Mikroangiopathie« (oder Moschcowitz-Syndrom) umschreiben kann. Der Altersgipfel der TTP befindet sich zwischen dem 30. - 50. Lebensjahr. Frauen sind doppelt so häufig betroffen wie Männer. Das verwandte Krankheitsbild ist das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS); dies tritt vor allem im Kindesalter, seltener bei jüngeren Erwachsenen auf. Unbehandelt haben diese Erkrankungen eine hohe Mortalität von über 90%. Diese lässt sich durch eine Plasmaaustauschtherapie auf 10 - 30% senken. *Eine initiale Gabe von Thrombozytenkonzentraten ist kontraindiziert!*

Pathogenese

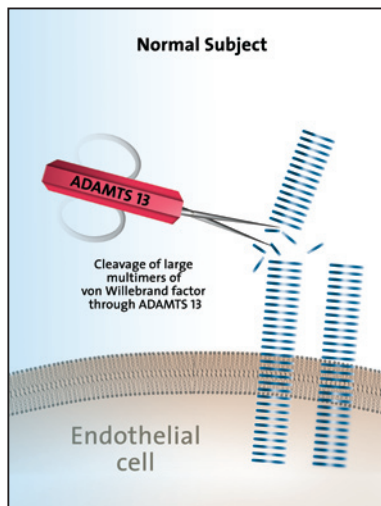


Abb. 7 gesunde Person (nach Moake J. New Engl. J Med. 2002, 347; 589)

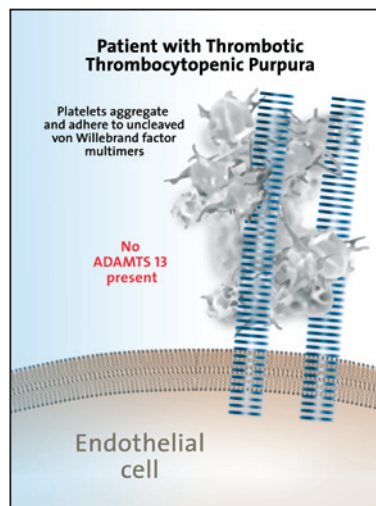


Abb. 8 Patient mit TTP (nach Moake J. New Engl. J Med. 2002, 347; 589)

Primär wird eine Endothelzellläsion (z. B. durch einen Infekt) angenommen – dadurch entstehende, lange Multimere des von-Willebrand-Faktors lösen eine Aggregation von Thrombozyten in den Kapillaren aus. Normalerweise werden die langen Multimere durch eine von-Willebrand-Faktor spaltende Protease namens ADAMTS 13 aufgespalten (siehe Abb. 7).

Bei der erworbenen Form der TTP findet man Antikörper gegen ADAMTS 13, sodass dessen Aktivität sehr stark eingeschränkt ist (siehe Abbildung 8).

Durch zunehmende Thrombozytenaggregation in den Kapillaren kommt es zu einem dramatischen Verbrauch an Plättchen einerseits und zu Mikrozirkulationsstörungen andererseits – besonders betroffen sind Organe wie ZNS, Nieren, Herz und Pankreas. Außerdem entstehen durch erhöhte Scherkräfte in den verengten Kapillaren vermehrt Fragmentozyten.

Wegweisend sind die Zeichen des erhöhten Thrombozyten- und Erythrozytenumsatzes und die Organ-symptomatik durch Mikrothrombosierung und -infarzierung. Typisch ist die diagnostische Trias aus:

- Thrombozytopenie mit erhöhtem Anteil an unreifen Thrombozyten, teilweise mit Blutungen,
- Hämolyse in Form der mikroangiopathischen hämolytischen Anämie – Fragmentozyten (= Schistozysten) im peripheren Blut,
- ZNS-Symptomatik wie Verwirrtheit oder Krampfanfälle.

Dass hier Parameter wie IPF (Immature Platelet Fraction = Anteil unreifer Thrombozyten), FRC % (Anteil an Fragmentozyten), Retikulozyten mit IRF (Immature Reticulocyte Fraction = Anteil unreifer Retikulozyten) oder RPI diagnostisch unterstützen können, liegt somit auf der Hand. Die Tatsache, dass diese mit xE-5000 außerdem rund um die Uhr vollautomatisiert (ohne Probenvorbereitung) in weniger als einer Minute verfügbar sind, kann das diagnostische Zeitfenster minimieren und ein schnelleres Einleiten einer zielgerichteten Therapie ermöglichen.

Durch den Case Manager des xE-5000 findet über die reine Werteproduktion hinaus eine integrierte Auswertung relevanter Parameterkonstellationen statt. Diese Auswertung resultiert in vergleichenden Darstellungen des aktuell gemessenen Patienten mit einem Musterfall und den entsprechenden Hintergrundinformationen, wie typische grafische Informationen, typische Zellbilder, Informationen zur Erkrankung, u.s.w. – wir berichteten in der letzten Ausgabe der SYSMEX XTRA 1/2007.

Literatur

- 1) E. Hiller, A. Matzdorff, J.Th. Fischer: *Thrombozytopenien*, DGHO, Juli 2005
- 2) Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin S: *Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia.* *Brit J Haematol* 2004; 126: 93
- 3) Kickler T, Oguni S, Borowitz M: *A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia.* *Am J Clin Pathol*, 2006; 125:282
- 4) Meiyi Jiang, Katsuyasu Saigo, Shunichi Kumagai, Shion Imoto, Yoshiyuki Kosaka, Hideaki Matsumoto, Keiji Fujimoto: *Quantification of red blood cell fragmentation by automated haematology XE-2100.* *Clin Lab Haem*, 2001, 23, 167-172
- 5) K. Saigo, M. Jiang, C. Tanaka, K. Fujimoto, A. Kobayashi, K. Nozu, K. Lijima, R. Ryos, T. Sugimoto, S. Imoto, S. Kumagai: *Usefulness of automatic detection of fragmented red cells using a haematology analyzer for diagnosis of thrombotic microangiopathy.* *Clin Lab Haem*, 2002; 24, 347-351
- 6) Shion Imoto, Tohru Murayama, Kenichi Nagai, Norio Hirabayashi, Chiaki Tanaka, Mahito Misawa, Keiichiro Kawasaki, Ishikazu Mizuno, Tamio Koizumi, Kazuyoshi Kajimoto, Takayuki Takahashi, Hiroshi Hara, Shunichi Kumagai, Katsuyasu Saigo: *Usefulness of Sequential Automated Analysis of Fragmented Red Blood Cells for the Differential Diagnosis of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura – Hemolytic Uremic Syndrome following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation.* *Lab Hematol*, 2005;11, 131-136
- 7) *Thrombotische Mikroangiopathie Standard*, Universitätsklinik Freiburg (Innere Medizin IV), Juli 2004
- 8) R. Fuchs, J. Thomalla: *Manual Mikroskopierkurs Hämatologie*, St. Antonius Hospital, Eschweiler, 2001, 110