

A stylized illustration of a human head profile in shades of red and orange, filled with numerous red blood cells, serving as a background for the title.

KLINISCHER NUTZEN UNREIFER THROMBOZYTEN

Die Bedeutung unreifer Thrombozyten bei der effektiven Versorgung von Immunthrombozytopenie (ITP) und der Beurteilung des Blutungsrisikos

Die Fraktion unreifer Thrombozyten (IPF) ist ein gut etablierter hämatologischer Parameter und definiert als prozentualer Anteil der frisch aus dem Knochenmark freigesetzten unreifen (oder auch retikulierten) Thrombozyten an der Gesamtzahl der Thrombozyten. Bekannt ist, dass erhöhte Werte von IPF auf erbliche, verbrauchende oder rückläufige thrombozytopenische Störungen hindeuten, während aplastische Veränderungen normale oder erniedrigte Werte von IPF aufweisen. IPF hilft daher Ärzten, Thrombozytopenien, die durch Verbrauch von Thrombozyten verursacht werden, von solchen zu unterscheiden, bei denen die Neubildung von Thrombozyten unterdrückt ist.

Die Konzentration unreifer Thrombozyten (IPF#) ist ein neuer diagnostischer Parameter, der spezifisch die Anzahl der neugebildeten unreifen Thrombozyten widerspiegelt. Der Parameter ist daher vollkommen unabhängig von der Gesamtkonzentration der Thrombozyten und wird von Thrombozyten-Transfusionen, die dem Patienten verabreicht wurden, nicht gestört (Abb. 1) [1, 2].

Bei der Beobachtung chronischer Immunthrombozytopenie (ITP) oder der Abschätzung des Anspringens auf die Therapie, sind Thrombozytenkonzentration und Fraktion

unreifer Thrombozyten allein nicht aussagekräftig genug. Dies liegt daran, dass chronische ITP sowohl auf einer Unterdrückung der Thrombopoese als auch auf einem erhöhten Verbrauch der Thrombozyten beruht. Die Konzentration unreifer Thrombozyten kann hier wichtige Informationen über das Anspringen des Patienten auf die Therapie, insbesondere den jeweils effektiven Mechanismus, bieten, aber auch über das Blutungsrisiko.

Die Konzentration unreifer Thrombozyten zeigt an, welcher Behandlungsweg bei ITP wirksam ist

Immunthrombozytopenie (ITP) ist eine Autoimmunerkrankung, für die eine isoliert erniedrigte Konzentration der Thrombozyten kennzeichnend ist. Die meisten Patienten haben Autoantikörper gegen Thrombozyten, die die Entfernung von Thrombozyten aus dem Blutkreislauf begünstigen (via Rückhaltung und Zerstörung in der Milz). In fortgeschrittenen Stadien kann auch die Produktion von Thrombozyten durch Megakaryozyten beeinträchtigt sein, indem die Antikörper die Entwicklung von Megakaryozyten einschränken, ihre Apoptose induzieren oder die Freisetzung von Thrombozyten aus dem Knochenmark behindern.

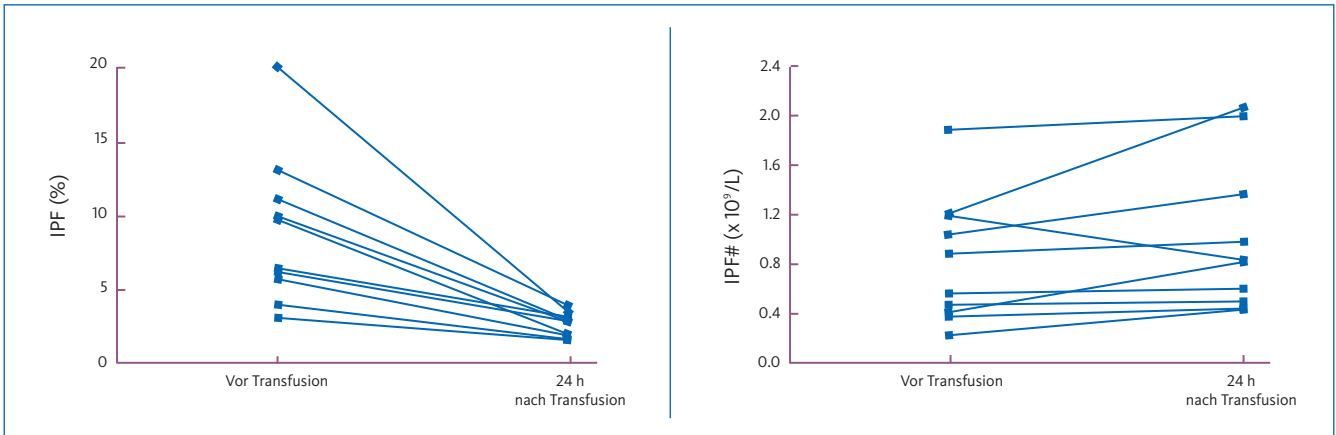


Abb. 1 IPF und IPF#-Werte vor und nach der Thrombozytentransfusion. Bearbeitet nach Have et al. [1].

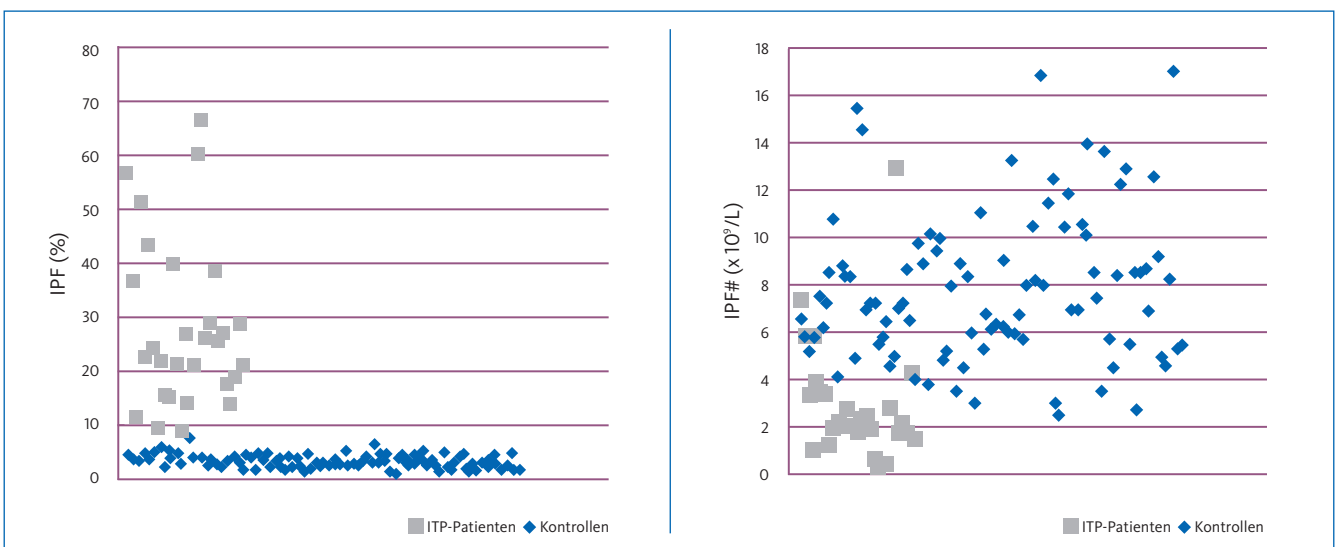


Abb. 2 Der IPF-Wert ist höher in ITP-Patienten als in der Kontrollgruppe. Der IPF#-Wert zeigt dagegen, dass die Thrombozytenproduktion in ITP-Patienten nicht erhöht ist, da der IPF#-Wert in ITP-Patienten niedriger als in der Kontrollgruppe ist. Bearbeitet nach Barsam et al. [3].

Früher nahm man an, dass die Thrombopoese bei ITP erhöht sein müsse, um den Verlust an Thrombozyten durch beschleunigten Abbau zu kompensieren. Mittlerweile gibt es aber umfassende Belege dafür, dass die Neuproduktion von Thrombozyten eingeschränkt oder zumindest angesichts der Abbaurates suboptimal ist.

Angesichts dieser multifaktoriellen Pathophysiologie der ITP ist auch das Anspringen der Patienten auf die Therapie komplex. Häufig steigt zwar nach Behandlung die Konzentration der Thrombozyten rasch an, nach Therapieende erfolgt aber dann oft ein Rückfall, der weitere Behandlungsschritte notwendig macht. Der Zeitrahmen des Anspringens variiert so auch je nach Patient und spezifischer Behandlung. Da IPF# unabhängig von der Gesamtkonzentration der Thrombozyten ist, erlaubt es Rückschlüsse auf die pathophysiologischen Mechanismen und das Anspringen auf die Therapie bei ITP.

Barsam et al. (2014) untersuchten die Verwendung von Parametern der unreifen Thrombozyten (IPF%, IPF#) zur

Die Konzentration unreifer Thrombozyten (IPF#) misst das Anspringen des Knochenmarks auf die ITP-Therapie in Echtzeit und erlaubt Einblicke in die zugrundeliegenden Mechanismen.

Beobachtung des Therapiefortschritts bei ITP-Patienten. Zunächst war IPF# bei der Mehrheit der ITP-Patienten niedriger als bei den gesunden Kontrollen ($3,2$ bzw. $7,8 \times 10^9/L$), aber IPF war höher ($29,2\%$ bzw. $3,2\%$), wie in Abb. 2 dargestellt [3]. Der IPF#-Wert legt nahe, dass die Thrombozytenproduktion in aller Regel bei ITP-Patienten nicht erhöht ist.

Die Autoren schlussfolgerten zudem, dass IPF# von Vorteil bei der Beurteilung ist, welcher Mechanismus bei der Behandlung von ITP zum Tragen kommt. IPF# konnte unterscheiden, ob die Erhöhung der Gesamtkonzentration der Thrombozyten durch eine vermehrte Produktion bedingt ist oder eine Unterbindung des antikörper-bedingten Abbaus

der Thrombozyten. Sieben von sieben Patienten, die mit RhoD-Immunglobulin (IV anti-D) ansprachen und sechs von acht Patienten, die auf intravenöses Immunglobulin (IVIg) ansprachen, zeigten keinen begleitenden Anstieg von IPF#. Zwei von acht Patienten mit IVIg und der einzelne Patient mit sowohl IV anti-D und IVIg hatten signifikante Anstiege von IPF#.

Dies legt eine Unterbindung des Thrombozytenabbaus als primären Wirkmechanismus sowohl von IV anti-D und IVIg nahe, wobei IVIg auch die Thrombopoese verbessern könnte (Abb. 3) [3].

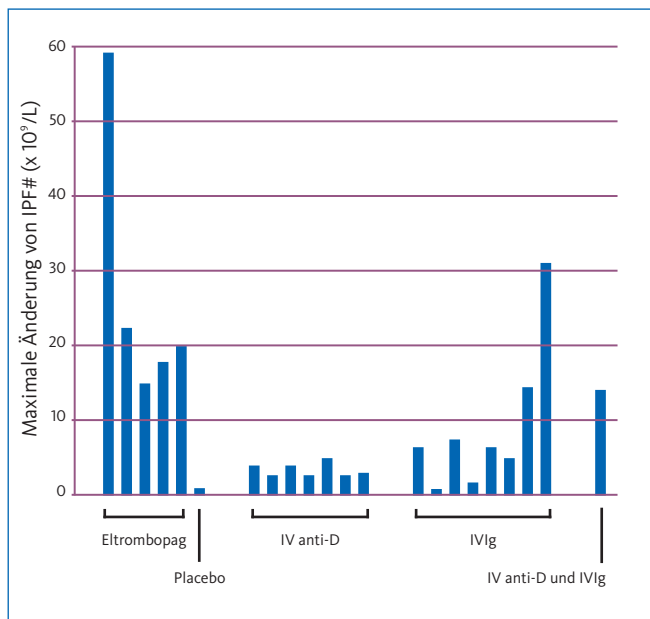


Abb. 3 Maximal beobachtete Veränderung in IPF# innerhalb von 10 Tagen nach verschiedenen Behandlungsformen in Patienten mit ITP. Bearbeitet nach Barsam et al. [3].

Der Parameter IPF# kann Non-Responder und Low-Responder gegenüber thrombopoetischen Wirkstoffen frühzeitig identifizieren.

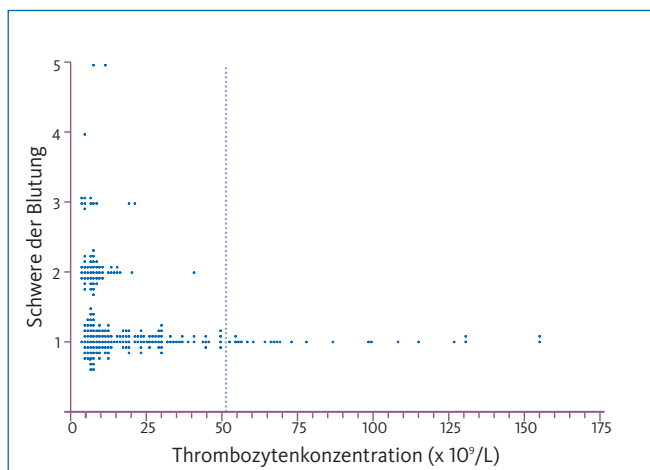


Abb. 4 Verteilung von unerwünschten Blutungsereignissen nach Schwere und Thrombozytenkonzentration in Patienten mit chronischer ITP. Jeder Punkt repräsentiert ein Blutungsereignis. Bearbeitet nach Gernsheimer et al. [6].

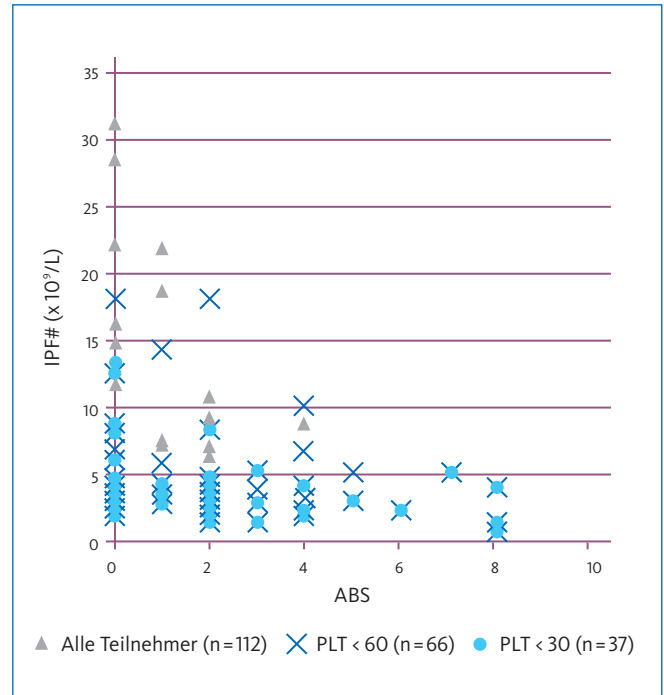


Abb. 5 Korrelation der Konzentration unreifer Thrombozyten (IPF#) mit Schweregrad der akuten Blutung (acute bleeding score, ABS). Bearbeitet nach Greene et al. [7].

Die Autoren fanden ferner, dass Non-Responder gegenüber thrombopoetischen Wirkstoffen eine erhöhte Anzahl abnormaler und apoptotischer Megakaryozyten in ihrem Knochenmark aufwiesen, ohne einen erhöhten IPF# aufzuweisen. Das legt nahe, dass Antikörper die Freisetzung von Thrombozyten in den Blutkreislauf blockierten und zeigt, dass bei ITP die Thrombopoese keineswegs erhöht sein muss, da die Zahl neu produzierter Thrombozyten gering ist. Daraus folgt, dass die Verwendung von IPF# die Identifizierung von Non- und Low-Respondern gegenüber thrombopoetischen Wirkstoffen frühzeitig ermöglicht [4, 5].

Erhöhte Konzentrationen unreifer Thrombozyten sind mit einem niedrigeren Blutungsrisiko verbunden, da unreife Thrombozyten eine höhere Reaktivität und ein höheres hämostatisches Potenzial aufweisen

Es ist wichtig, frühzeitig die Patienten mit dem höchsten Blutungsrisiko identifizieren zu können, um Thrombozytenkonzentrate gezielt bei Patienten einzusetzen, die am meisten von ihnen profitieren. Patienten mit ähnlich niedriger Thrombozytenkonzentration können ein ganz unterschiedliches Blutungsrisiko aufweisen. Einige Patienten weisen bei einer Thrombozytenkonzentration von 20 x 10⁹/L manifeste Blutungen auf, während andere nur selten bluten. Wie in Abbildung 4 gezeigt, ist bei der Mehrheit der Patienten mit stark erniedrigter Thrombozytenkonzentration keine schweren Blutungen zu beobachten [6]. Daher kann von der Thrombozytenkonzentration alleine nicht auf das Blutungsrisiko geschlossen werden.

Greene *et al.* (2008) untersuchten IPF# in 112 ITP-Patienten um zu prüfen, ob die Konzentration unreifer Thrombozyten besser mit dem Blutungsrisiko korreliert als die Gesamtkonzentration der Thrombozyten oder das mittlere Thrombozytenvolumen. IPF# wies bei allen Probanden eine stärkere Korrelation mit dem Schweregrad der akuten Blutung (acute bleeding score) als die Gesamtkonzentration der Thrombozyten (Abb. 5) [7], während das mittlere Thrombozytenvolumen in keiner der untersuchten Kohorten statistisch signifikant mit dem acute bleeding score korrelierte.

Eine mögliche Erklärung für die von Greene *et al.* gefundene Korrelation ist, dass unreife Thrombozyten ein höheres hämostatisches Potenzial als reife Thrombozyten haben, wie mehrere Studien gezeigt haben [8, 9]. Junge, frisch gebildete Plättchen mit Restmengen an RNA sind reaktiver und haben höheres hämostatisches Potenzial, weil sie mehr thrombogene Substanzen (z. B. Thromboxan TX) bilden und

freisetzen können und spezifischere Oberflächenrezeptoren (z. B. Glycoproteine GPIIb/IIIa, P-Selectin (CD62P)) exprimieren, welche wichtige Marker der Thrombozytenaktivierung sind.

Die Studie von Guthikonda *et al.* (2008) konnte zeigen, dass der Anteil zirkulierender unreifer Thrombozyten (gemäß Immun-Durchflusszytometrie) eng mit der Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten korreliert. Neunzig Patienten wurden anhand der Größe ihrer Thrombozyten und des Anteils unreifer Thrombozyten in Terzile stratifiziert. Von allen unreifen Thrombozyten wurden 61% im Terzil der größten Plättchen beobachtet, verglichen mit nur 7% im Terzil der kleinsten Thrombozyten (Abb. 6). GPIIb/IIIa und P-Selectin waren in der Gruppe der größten Thrombozyten deutlich stärker exprimiert als in der Gruppe der kleinsten Thrombozyten. Die Aggregation war in der Gruppe der größten Thrombozyten signifikant stärker als in der mittleren und unteren Gruppe (Abb. 7) [8].

Der Nutzen der Messung unreifer Thrombozyten wurde bereits von einigen Klinikern erkannt und in ihre Praxis implementiert: Cremer *et al.* (2016) schlugen einen neuen klinischen Blutungs-Score für das Blutungsrisiko in thrombozytopenischen Neugeborenen vor, der neben klinischen Aspekten auch die Konzentration unreifer Thrombozyten berücksichtigt [10]. Parco *et al.* (2012) untersuchten zudem, ob Transfusionslösungen mit hoher Konzentration unreifer Thrombozyten (bei autologer peripherer Stammzelltransplantation) die Häufigkeit von Blutungen und hämorrhagischen Komplikationen verringern. Die 20 Patienten, die Lösungen mit hohem IPF (3–9%) erhielten, benötigten 83 Transfusionen, während die 20 Patienten, die Transfusionen mit niedrigem IPF (0–1%) erhielten, 129 Transfusionen benötigten. Prophylaktische Transfusionen konnten so von drei auf zwei pro Woche reduziert werden [11].

Schlussfolgerung und klinische Interpretation

Die Gesamtkonzentration der Thrombozyten bietet in der Versorgung von ITP und der Vorhersage des Anspringens auf die Therapie und des Blutungsrisikos nicht genügend Informationen. Die Thrombozytopenie bei ITP beruht sowohl auf eingeschränkter Neubildung von Thrombozyten als auch auf einem beschleunigten Abbau. Die Konzentration unreifer Thrombozyten kann daher wichtige Informationen zum Anspringen des Patienten auf die Therapie beisteuern.

IPF# ist ein neuer hämatologischer diagnostischer Parameter, der direkt zusammen mit dem großen Blutbild gemessen werden kann. IPF# bildet die Reaktion des Knochen-

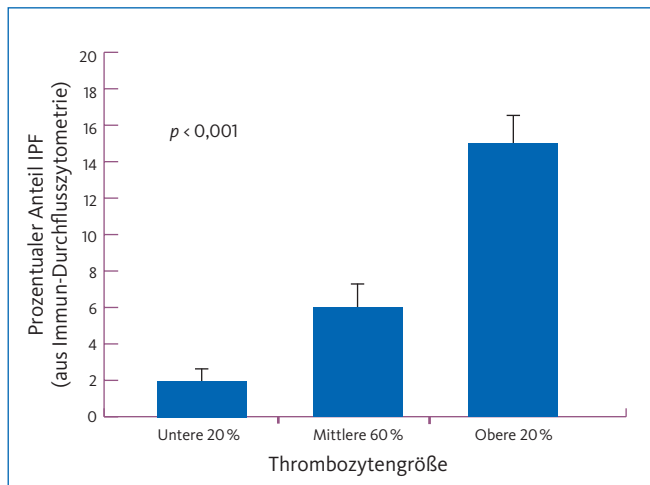


Abb. 6 Prozentualer Anteil von unreifen Thrombozyten in den Gruppen der unteren 20%, mittleren 60% und oberen 20% nach Thrombozytengröße. Bearbeitet nach Guthikonda *et al.* [8].

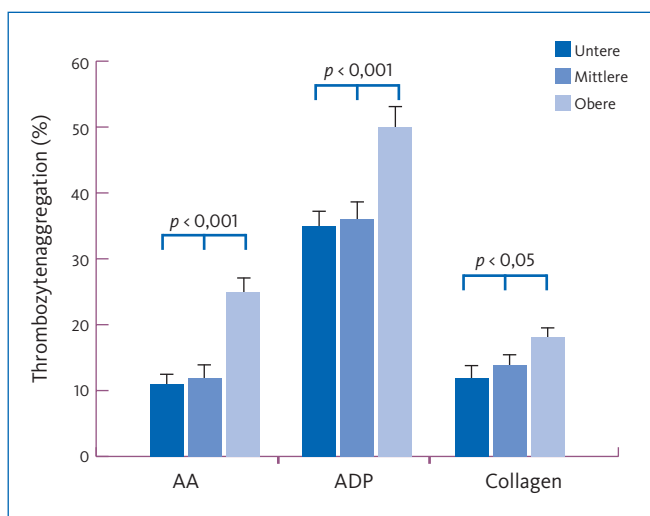


Abb. 7 Thrombozytenaggregation in Reaktion auf 1,5 mmol/L Arachidonsäure (AA), 5 μmol/L Adenosin-Diphosphat (ADP) oder 1 μg/mL Collagen (Terzile nach Thrombozytengröße). Wie oben beschrieben enthält das obere Terzil einen hohen Anteil unreifer Thrombozyten. Bearbeitet nach Guthikonda *et al.* [8].

marks in Echtzeit ab und repräsentiert die Zahl (bzw. Konzentration) neu gebildeter Thrombozyten, die frisch ins Blut freigesetzt wurde.

Die Konzentration unreifer Thrombozyten kann bei ITP genutzt werden, um zu beurteilen, ob der Wirkmechanismus der Therapie effektiv ist. Sie erlaubt, die klinische Fragestellung zu beantworten, ob ein beobachteter Anstieg in der Gesamtkonzentration der Thrombozyten auf einer erhöhten Produktion oder Inhibierung des antikörpervermittelten Abbaus beruht.

Aufgrund der höheren Reaktivität und des höheren hämostatischen Potenzials unreifer Thrombozyten ist eine höhere Konzentration unreifer Thrombozyten auch mit einem niedrigeren Blutungsrisiko für schwer thrombozytopenische Patienten verknüpft.

Literatur

- [1] **Have LWJ et al.** (2013): Absolute immature platelet count may predict imminent platelet recovery in thrombocytopenic children following chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer*. 60(7):1198–203.
- [2] **Bat T et al.** (2013): Measurement of the absolute immature platelet number reflects marrow production and is not impacted by platelet transfusion. *Transfusion*. 53(6):1201–4.
- [3] **Barsam SJ et al.** (2011): Platelet production and platelet destruction: assessing mechanisms of treatment effect in immune thrombocytopenia. *Blood*. 117(21):5723–32.
- [4] **Psaila B et al.** (2012): In vivo effects of eltrombopag on platelet function in ITP: no evidence of platelet activation. *Blood*. 119(17):4066–72.
- [5] **Bernlochner I et al.** (2015): Impact of immature platelets on platelet response to ticagrelor and prasugrel in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J*. 36(45):3202–10.
- [6] **Gernsheimer TB et al.** (2010): Evaluation of bleeding and thrombotic events during long-term use of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenia (ITP). *J Thromb Haemost*. 8(6):1372–82.
- [7] **Greene LA et al.** (2014): Beyond the platelet count: immature platelet fraction and thromboelastometry correlate with bleeding in patients with immune thrombocytopenia. *Br J Haematol*. 166(4):592–600.
- [8] **Guthikonda S et al.** (2011): 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.
- [9] **Psaila B et al.** (2008): Differences in platelet function in patients with acute myeloid leukemia and myelodysplasia compared to equally thrombocytopenic patients with immune thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*. 9(11):2302–10.
- [10] **Cremer M et al.** (2016): Thrombocytopenia and platelet transfusion in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med*. 21(1):10–8.
- [11] **Parco S et al.** (2012): Application of reticulated platelets to transfusion management during autologous stem cell transplantation. *Onco Targets Ther*. 5: 1–5.

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