

Diplomarbeit

**Thrombozytenaggregationsmessungen mittels
Multiplate® in einer pädiatrischen Kohorte**

eingereicht von

Vanessa Seidler

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

klinischen Abteilung für allgemeine Pädiatrie

unter der Anleitung von

Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut

Dr. med. univ. Harald Haidl

Graz, 27.04.2021

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 27.04.2021

Vanessa Seidler, eh

Danksagungen

Die Bereitstellung des Themas und der ganzzzeitlichen Betreuung verdanke ich Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut und Dr. med. univ. Harald Haidl. Vielen Dank für die großartige Unterstützung und die Ideen, die ihr mir habt zukommen lassen. Ich habe viel durch die Zusammenarbeit lernen und mitnehmen können.

Ein weiteres Dankeschön gilt meinen Eltern, Johann und Gabriela. Vor allem meiner Mutter, die mir mit Rat und Tat zur Seite stand und mich durch das Studium hinweg unterstützte. Ihre Aufmunterungsversuche vor einer Prüfung haben mir den Stress zwar nicht nehmen können, aber es tat gut sie dann doch zu hören.

Im Studium dreht sich vieles Rund um das Thema Medizin, vor allem wenn fast der ganze Freundeskreis nur aus MedizinstudentInnen besteht, so sorgten meine Brüder, Marvin und Philipp, für reichlich Abwechslung.

Meinen Freunden verdanke ich eine unglaubliche schöne und lustige Studienzeit. Die vergangenen Jahre wären ohne sie nur halb so lustig gewesen und ich bin stolz auf uns alle, dass wir es gemeinsam so weit geschafft haben.

Natürlich kommt das Beste zum Schluss: Mein Lebenspartner Florian! Auf ihn konnte ich mich stets verlassen, er unterstützte mich durch alle Phasen des Studiums hinweg. Ich bin dankbar so einen großartigen Menschen im Studium und darüber hinaus gefunden zu haben.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	v
Abbildungsverzeichnis	vii
Tabellenverzeichnis	viii
Zusammenfassung	x
Abstract	xi
1 Einleitung	1
1.1 Physiologie der Hämostase	3
1.1.1 Vaskuläre Reaktion	3
1.1.2 Primäre Hämostase.....	3
1.1.3 Sekundäre Hämostase	6
1.1.3.1 Rolle der Thrombozyten in der sekundären Hämostase	7
1.1.4 Thrombozytenfunktion im Säuglings- Kindes- und Jugendalter.....	9
1.2 Pathologien der primären Hämostase	12
1.2.1 Hereditäre Thrombozytopathien	15
1.2.2 von-Willebrand Syndrom	19
1.2.3 Erworbene Thrombozytopathien	24
1.3 Labordiagnostik	29
1.3.1 Blutungszeit.....	29
1.3.2 Lichttransmissionsaggregometrie	30
1.3.3 The Platelet Function Analyzer – PFA-100®	31
1.3.4 Multiplate®	35
2 Material und Methoden	40
2.1 Studiendesign	40
2.2 Studienpopulation	41
2.3 Statistische Auswertung	41

3	Ergebnisse	43
3.1	Deskriptive Auswertung der Studienpopulation	43
3.2	Überprüfung der Notwendigkeit von Altersklassen	47
3.3	Statistische Auswertung der Multiplate® Ergebnisse	50
3.3.1	Explorative Datenanalyse der Multiplate® Ergebnisse	50
3.3.2	Berechnung der Sensitivität und Spezifität der Multiplate® Werte	54
3.3.3	Korrelationsanalyse mit den Agonisten von Multiplate®	55
3.4	Statistische Auswertung der PFA-100® Ergebnisse.....	57
3.4.1	Explorative Datenanalyse der PFA-100® Ergebnisse	57
3.4.2	Berechnung der Sensitivität und Spezifität der PFA-100® Werte.....	59
3.4.3	Korrelationsanalyse mit den Agonisten von PFA-100®	60
3.5	Vergleich Multiplate® und PFA-100®	61
3.5.1	Korrelationsanalyse PFA-100® und Multiplate®	63
3.6	Zusammenfassung der Resultate	64
4	Diskussion	65
4.1	Referenzbereiche und Altersgruppen	65
4.2	Sensitivität und Spezifität.....	68
4.3	Einfluss der Thrombozytopenie	70
4.4	Limitationen der Studie	70
5	Konklusion	72

Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
ADPtest HS	ADPtest high sensitivity
ASA Reagent	Acetylsalicylic acid Reagent
ASPItest	Arachidonsäure enthaltendes Reagenz
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under (the) Curve
BSS	Bernard-Soulier-Syndrom
BT	Blutungszeit
Ca ²⁺	Calcium
CHS	Chédiak-Higashi-Syndrom
COLtest	Kollagen enthaltendes Reagenz
COX	CyclooxygenaseEPI
d. h.	das heißt
EPI	Epinephrin
ET	Endothelin
ET-1	Endothelin-1
Etc.	Et cetera
F	Faktor
GP	Glykoprotein
GT	Thrombasthenie Glanzmann
HNO	Hals-Nasen-Ohren
HPS	Hermansky-Pudlak-Syndrom
ISTH BAT-Score	International Society on Thrombosis and Haemostasis- Bleeding Assessment Tool- Score
KGD-Sequenz	Aminosäuresequenz aus Lysin, Glycin und Asparaginsäure
L	Liter
Lj	Lebensjahr
LTA	Lichttransmissionsaggregometrie
mg	milligramm
NSAR	nichtsteroidalen Antirheumatika
OP	Operation

P2Y ₁₂	Chemorezeptor für Adenosindiphosphat
PAC-1	Procaspase-activating compound 1
PAF	platelet activating factor
PFA-100®	Platelet-Function-Analyzer
PPP	plättchenfreiem Plasma
PRP	plättchenreiches Plasma
RGD-Sequenz	Aminosäuresequenz aus Arginin, Glycin und Asparaginsäure
RIPA	Der Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregations-Test
RISTOtest	Ristocetin enthaltendes Reagenz
S.	Seite
sek	Sekunden
SPD	Storage-Pool-Defekt
TF	Tissue Faktor
TRAPtest	thrombin receptor activating peptide Reagenz
TXA ₂	Thromboxan A ₂
U	Unit
VT	Verschlusszeit
vWF	von-Willebrand-Faktor
vWF: Ag	vWF: Antigen
vWF: CB	vWF: Kollagenbindungsaktivität
vWF: F.VIII B	vWF: Faktor VIII Bindungskapazität
vWF: F.VIII C	vWF: Faktor VIII, C-Aktivität
vWF: Rco	vWF: Ristocetin-Cofaktor
vWS	von-Willebrand Syndrom
z.B.	zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Vaskuläre Blutstillung.....	3
Abbildung 2: Primäre Hämostase	4
Abbildung 3: Sekundären Hämostase.....	6
Abbildung 4: Propagationsphase	7
Abbildung 5: Diagnosealgorithmus bei Thrombozytopathien	14
Abbildung 6: von Willebrand Faktor-Biosynthese.....	21
Abbildung 7: Diagnosealgorithmus für vWS; RIPA: Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregations-Test	22
Abbildung 8: Einfluss von ASS auf die Thrombozytenaggregation in der LTA...	25
Abbildung 9: Einfluss von Clopidogrel auf die Thrombozytenaggregation in der LTA	27
Abbildung 10: Einfluss von Tirofiban auf die Thrombozytenaggregation in der LTA	28
Abbildung 11: Schema des LTA.....	31
Abbildung 12: Aufbau des PFA-100®	32
Abbildung 13: Schematische Darstellung von Multiplate®	36
Abbildung 14: Zunahme der Impedanz über die Zeit	36
Abbildung 15: Reagenzien von Multiplate®	37
Abbildung 16: Balkendiagramm der Altersverteilung	44
Abbildung 17: Boxplot der Messergebnisse von Multiplate®	51
Abbildung 18: Boxplot der Messergebnisse von PFA-100®	58
Abbildung 19: Gesamtüberblick aller Messergebnisse	64
Abbildung 20: Referenzwerte für Säuglinge und Kinder aus der Studie von Halimeh.....	66
Abbildung 21: Referenzwerte für Erwachsene aus der Studie von Peerschke	67

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mediatoren aus granulären Organellen	5
Tabelle 2: Übersicht über angeborene und erworbene Thrombozytopathien und dem Ort der Funktionsstörung.....	13
Tabelle 3: Geschlechterverteilung der Studienpopulation.....	43
Tabelle 4: Häufigkeit der positiven Blutungsanamnese aufgeteilt in Geschlecht	44
Tabelle 5: Häufigkeit der peri- und postoperativen Komplikationen	46
Tabelle 6: Häufigkeit der peri- und postoperativen Komplikationen gruppiert in Blutungsanamnese.....	47
Tabelle 7: Anzahl der Kinder in den jeweiligen Altersklassen	48
Tabelle 8: Einfaktorielle Varianzanalyse	49
Tabelle 9: Anzahl der erhobenen Messwerte von Multiplate® und PFA-100®	50
Tabelle 10: Lagemaßen und Streuung der Messwerte von Multiplate®	50
Tabelle 11: Anzahl der auffälligen Multiplate® Messergebnisse	52
Tabelle 12: Anzahl der Multiplate® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich.....	53
Tabelle 13: Anzahl der aufgetretenen Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von Multiplate®	55
Tabelle 14: Korrelationsanalyse der Agonisten von Multiplate®	56
Tabelle 15: Lagemaßen und Streuung der Messwerte von PFA-100®	57
Tabelle 16: Anzahl der PFA-100® Messergebnisse, die sich außerhalb der Norm befinden	58
Tabelle 17: Anzahl der PFA-100® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich.....	59
Tabelle 18: Anzahl der aufgetretenen Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von PFA-100®.....	60
Tabelle 19: Korrelationsanalyse der Agonisten von PFA-100®	61
Tabelle 20: Anzahl an Komplikationen zu den Gesamtergebnissen von Multiplate® und PFA-100®	62
Tabelle 21: Vergleich Multiplate® (ohne RISTO, TRAP) und PFA-100® zu Komplikationen.....	63
Tabelle 22: Korrelationsanalyse von Multiplate® und PFA-100® (gesamt)	63
Tabelle 23: 10. und 90. Perzentile von Multiplate® bei ausgewählten Fällen	69

Tabelle 24: Aufdeckungsrate von Multiplate® unter den neuen Referenzbereichen	69
Tabelle 25: Aufdeckungsrate von Multiplate® mit neuen Referenzbereiche für den RISTOtest und den TRAPtest	70

Zusammenfassung

Einleitung: Die Detektion von Thrombozytenfunktionsstörungen stellt bei Neugeborenen, Kindern und Jugendlichen eine besondere Herausforderung dar. Diese weisen in vitro bedingt eine Thrombozytenunterfunktion auf, somit gestaltet sich eine Differenzierung zwischen physiologischen und pathologischen Messwerten als schwierig. Die Grazer Kinderklinik verwendet zur Überprüfung der Thrombozytenfunktion das PFA-100[®]. Diese Methodik ist mit einigen Schwachstellen verbunden und wird in dieser Arbeit dem neueren Multiplate[®] gegenübergestellt. Das Ziel dieser Studie ist herauszufinden, ob sich Multiplate[®] besser als Screeningmethode für Thrombozytenfunktionsstörungen von Kindern eignet als das PFA-100[®].

Material und Methoden: Bei der Diplomarbeit handelt es sich um eine retrospektive Studie, in welcher Daten von pädiatrischen PatientInnen (N=64) ausgewertet wurden, die in dem Zeitraum von Oktober 2011 bis Januar 2015 im Rahmen von Routineabklärungen an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde vorstellig wurden. Die mit Multiplate[®] gemessenen Werte wurden mit PFA-100[®]-Messwerten verglichen, die beide über das krankenhausinterne System „OpenMedocs“ erhoben wurden. Über OpenMedocs wurden zusätzliche patientenspezifische Informationen und das Auftreten von Blutungen erhoben. Die Auswertung aller erhobenen Daten erfolgte über die Erstellung eines Registers in Excel und mit der Weiterverarbeitung in SPSS 26.

Ergebnisse: Von 52 PatientInnen zeigten elf Blutungserscheinungen. Vor Anpassung der Referenzbereiche wies Multiplate[®] eine Sensitivität von 27,3% und eine Spezifität von 48,8% auf. PFA-100[®] hatte im Vergleich dazu eine Sensitivität von 20,0% und eine Spezifität von 67,5%. Nach Anpassung der Referenzbereiche von Multiplate[®] lag die Sensitivität bei 63,6% und die Spezifität bei 53,7%.

Schlussfolgerung: Multiplate[®] hat eine bessere Aufdeckungsrate für Thrombozytendefekte als das PFA-100[®]. Eine weiterführende Studie mit einer größeren Kohorte zur Ermittlung altersspezifischer Referenzbereiche ist indiziert.

Abstract

Introduction: The detection of platelet dysfunction for newborns, children and adolescents can be challenging. Due to the in vitro reduced platelet aggregation and platelet hyporeactivity, the differentiation between physiologically and pathologically reduced platelet aggregation is difficult. The pediatric clinic of Graz uses PFA-100® to monitor platelet function. This method has some flaws and will therefore be compared within this project with the newer method Multiplate®. The aim of this project is to determine if Multiplate® is a better screening tool for platelet dysfunction in children than PFA-100®.

Material and Methods: This retrospective study includes data of pediatric patients (N = 64) in the time between October 2011 and January 2015. These children had a routine check-up at the pediatric clinic of Graz. The results of Multiplate® and PFA-100® were retrieved from the hospital internal system "OpenMedocs". Additional information was also obtained from OpenMedocs. The obtained data was analyzed in Excel and further processed in SPSS 26.

Results: Eleven of 52 patients showed symptoms of bleeding. Before adjusting its reference range, Multiplate® showed a sensitivity of 27,3% and a specificity of 48,8%. PFA-100® had a sensitivity of 20,0% and a specificity of 67,5%. After adjustment of the in-house reference range of Multiplate®, a significantly higher sensitivity (63,6%) as well as improved specificity (53,7%) were achieved.

Conclusion: Multiplate® shows a better detection rate of platelet dysfunction than PFA-100®. An additional study with a larger group size in order to identify reference ranges for different age groups is indicated.

1 Einleitung

Die Hämostase unterteilt sich in eine primäre und sekundäre Hämostase. Dabei gehört zur primären Hämostase das Zusammenspiel von Gefäßendothel und Thrombozyten, zur sekundären Hämostase vor allem das der Gerinnungsfaktoren. [1] Es ist wichtig Störungen der Thrombozytenfunktion detektieren zu können, um auf mögliche Komplikationen während einer Operation vorbereitet zu sein und gegebenenfalls prä- und postoperativ Vorsorge leisten zu können. Einige Pathologien der Hämostase, die im Kapitel 1.2 näher erläutert werden, lassen sich nur mithilfe spezieller Diagnostik identifizieren. Die wenigsten Störungen der Thrombozytenfunktion machen sich als „Blickdiagnose“ bemerkbar und können für den Betroffenen/ die Betroffene gefährlich sein. Auch für PatientInnen, die auf Thrombozytenaggregationshemmer angewiesen sind, stellen Operationen ein größeres Blutungsrisiko dar.

Eine besondere Herausforderung stellen Neugeborene, Kinder und Jugendliche dar, da diese physiologisch bedingt eine Thrombozytenunterfunktion aufweisen und somit eine Differenzierung zwischen physiologischen oder pathologischen auffälligen Messwerten sich als schwierig herausstellt.

Die Grazer Kinderklinik verwendet zur Überprüfung der Thrombozytenfunktion das PFA-100[®]. Diese Methodik ist mit einigen Schwachstellen verbunden und wird in dieser Arbeit dem neueren Multiplate[®] gegenübergestellt. Das Ziel dieser Studie ist es herauszufinden, ob sich Multiplate[®] besser als Screeningmethode für Thrombozytenfunktionsstörungen bei Kindern eignet als das PFA-100[®].

Die Diplomarbeit beginnt mit den Grundlagen der Hämostase, die einen Überblick über den Mechanismus der Blutstillung schafft und behandelt dann speziell die Verhältnisse der Thrombozytenaggregation bei Neugeborenen. Anschließend bauen sich darauf die Pathologien der Thrombozytenfunktion, besonders die der Medikamenten-induzierten Thrombozytopathien auf.

Da das Hauptaugenmerk auf der Diagnostik liegt, wird im Anschluss daran auf den ersten historisch relevanten Thrombozytenfunktionstest, den Goldstandard und besonders auf PFA-100® und Multiplate® eingegangen.

Da noch keine umfangreichen Daten und Literatur zur Anwendung von Multiplate® in der Pädiatrie existieren, werden die Ergebnisse aus dieser Studie zusätzlich mit publizierten Studien mit ähnlichem Studiendesign verglichen, um eine Einordnung der in-house Methode im internationalen Umfeld zu ermöglichen.

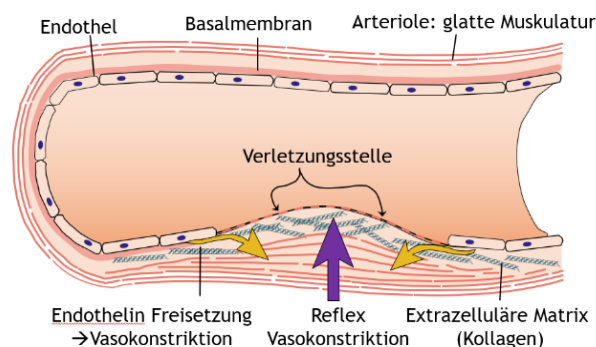
1.1 Physiologie der Hämostase

Tritt eine Verletzung des Gefäßes auf, so werden im Körper verschiedene Mechanismen in Gang gesetzt, die zu dessen Blutstillung führen. Sie setzen sich aus der vaskulären Reaktion, der primären und der sekundären Hämostase zusammen. [2]

1.1.1 Vaskuläre Reaktion

Um den Blutverlust so gering wie möglich zu halten, kontrahieren sich die Gefäße im verletzten Bereich. Dadurch nimmt die Fließgeschwindigkeit und folglich auch die Blutung ab. [1] Die Kontraktion der glatten Muskelzellen erfolgt durch das aus dem Endothelzell-stammende Endothelin (ET) (vgl. Abbildung 1). [2] Man unterscheidet drei Endotheline, wobei nur ET-1 direkt aus den Endothelzellen stammt. Im unbeschädigten Gefäß produzieren die Endothelzellen Stickstoffmonoxid und Prostazyklin, welche die Thrombozytenaggregation hemmen können und vasodilatativ wirken. [2]

Abbildung 1: Vaskuläre Blutstillung



Ref.: Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut

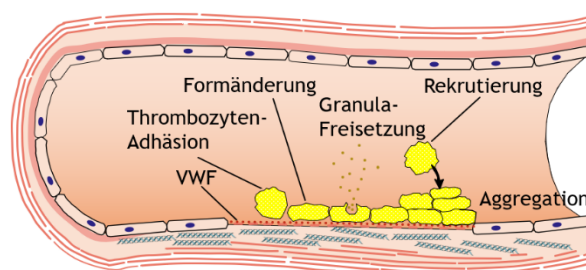
1.1.2 Primäre Hämostase

Der Weg zur Blutstillung wird durch die primäre Hämostase eingeleitet, die mit der **Thrombozytenadhäsion** (vgl. Abbildung 2) beginnt: Bei einem verletzten Gefäß kommt es zur Freilegung von Kollagenfasern, an denen sich Thrombozyten anhaften. [1]

Um eine molekulare Brücke zwischen dem Endothel und der Thrombozytenmembran zu schaffen, werden vom Endothel von-Willebrand-Faktor (vWF), Fibronektin und Laminin freigesetzt. [1] Diese entsteht zumal durch die direkte Bindung von freigelegten Kollagenfasern mit den Glykoproteinen (GP) Ia/IIa und GPVI, als auch mithilfe von vWF, der an den spezifischen Rezeptorkomplexen GPIIb/IX/V bindet, die sich auf der Thrombozytenmembran befinden. [3] Durch diese Interaktionen bewegen sich die Thrombozyten entlang der Gefäßwand fort, um sich schlussendlich anhaften zu können. [1]

Gleich im Anschluss erfolgt die **Thrombozytenaktivierung**: Sie umfasst die Formänderung, Aggregation und Sekretion. [1] Ruhende Thrombozyten erscheinen im Rasterelektronenmikroskop bikonkav, glatt und scheibenförmig. Die aktivierten Thrombozyten bilden lange Fortsätze (Pseudopodien) aus, wodurch sich Thrombozyten effizienter an das Endothel anhaften können. [3] Im thrombozytären Zytoskelett erfolgt die Ca^{2+} -induzierte Formänderung von globulärem zu fibrillärem Aktin, welches sich im Anschluss kontrahiert. [1] Durch den Formverlust der Thrombozyten gelangt ein Teil der negativ geladenen Phospholipidschicht nach außen. [3]

Abbildung 2: Primäre Hämostase



Ref.: Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhau

Moleküle des Rezeptors GPIIb/IIIa werden weiters von der Thrombozytenmembran bereitgestellt und aktiviert, wodurch sich Fibrinogen und Thrombospondin anhaften können. Dieser Vorgang fördert unter dem Effekt von Fibrin als „Klebstoff“ im Rahmen der sekundären Hämostase die irreversible Vernetzung der Thrombozyten untereinander. Dadurch bilden die Thrombozyten das **Thrombozytenaggregat**. [1] Begleitet wird dieser Vorgang durch die Sekretion von Mediatoren aus α -Granula und δ -Granula (vgl. Tabelle 1), die eine wichtige Grundlage für die darauffolgende sekundäre Hämostase schafft. [3]

Tabelle 1: Mediatoren aus granulären Organellen

Mediatoren	Funktion
aus α -Granula	
von-Willebrand-Faktor	Plättchenadhäsion an Kollagen
Fibrinogen (Gerinnungsfaktor I)	Thrombozytenaggregation über GP IIb/IIIa; plasmatische Gerinnung
Fibronektin	dient der Zellhaftung
Thrombospondin	irreversible Vernetzung der Thrombozyten
Wachstumsfaktoren (z.B. PDGF, FGF, TGF β)	wirken mitogen und stimulieren das Wachstum verschiedener Zelltypen (z.B. glatter Muskelzellen im Rahmen der Wundheilung), Vasokonstriktion
Faktor VIII und V	katalysieren die Gerinnungskaskade
aus δ -Granula	
ADP	Thrombozytenaktivierung; Aktivierung der Aggregation; Ca ²⁺ -Freisetzung aus den δ -Granula
Ca ²⁺	Kofaktor für Thrombozytenaktivierung, plasmatische Gerinnung (vermittelt die Anheftung der Gerinnungsfaktoren an die Thrombozytenmembran) und Retraktion
Serotonin	Vasokonstriktion; Thrombozytenaktivierung

Ref. J. C. Behrends, J. Bischofsberger, R. Deutzmann, H. Ehmke und S. Frings: Duale Reihe Physiologie, 3. Hrsg., Stuttgart: Georg Thieme, 2017, p. 191.

Weiters wird die Thrombozytenaggregation durch Freisetzung von Thromboxan A₂ (TXA₂) und platelet activating factor (PAF) unterstützt. TXA₂ wirkt vasokonstriktorisch und verstärkt zusammen mit PAF und ADP die Thrombozytenaktivierung. PAF aktiviert sowohl weitere Thrombozyten als auch Phagozyten (Makrophagen und Granulozyten); Makrophagen wiederum können PAF freisetzen, weshalb sie unter anderem als Entzündungsmediatoren zum Einsatz kommen. [3]

Die Freisetzung von Serotonin, Katecholaminen, ADP, Wachstumsfaktoren und dem bereits erwähnten TXA₂ führt zur Vasokonstriktion, wodurch sich das Gefäß verengt und die Fließgeschwindigkeit abnimmt. So bleibt am Ende der primären Hämostase eine vorläufige instabile Abdichtung der Wunde. [3]

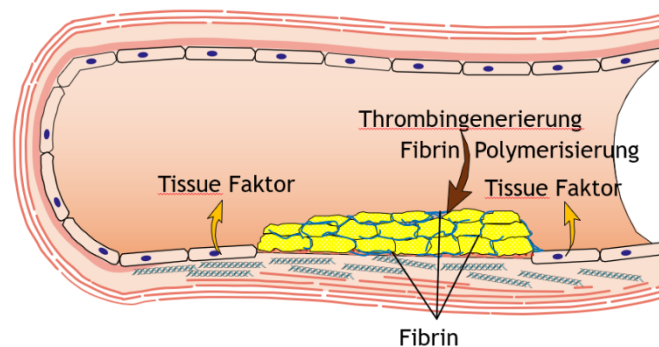
1.1.3 Sekundäre Hämostase

Der letzte Mechanismus im Rahmen einer Gefäßverletzung stellt die sekundäre Hämostase dar. Zwei verschiedene Modelle beschreiben die sekundäre Hämostase: Das klassische **Kaskadenmodell** und das **zellbasierte Modell**.

Das **Kaskadenmodell** beschreibt den Weg des stabilen Wundverschlusses durch Bildung eines Thrombus. [3] Sie unterteilt sich in drei Phasen: die Aktivierungsphase, die Koagulationsphase und die Retraktionsphase. [1] Die Gerinnungsaktivierung erfolgt sowohl extrinsisch durch Gewebsthromboplastin (Tissue Faktor), als auch intrinsisch durch Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen. Am Ende des extrinsischen und intrinsischen Wegs erfolgt die Aktivierung des Faktors X. [1]

Der aktivierte Faktor X (F-Xa) bildet mit aktiviertem Faktor V (F-Va), Phospholipiden und Ca^{2+} den Prothrombinasekomplex, woraus große Mengen Thrombin aus Prothrombin entstehen. [1] [3] Durch das aktivierte Thrombin erfolgt die Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin, welches mithilfe von aktiviertem Faktor XIII (F-XIIIa) den Thrombus festigt. [1] Letztlich kommt es zur Kontraktion des Fibrinnetzes durch die Aktin-Myosin-Querbrückenbildung der eingeschlossenen Thrombozyten, die die Wunde von innen her schließt. [1] [3]

Abbildung 3: Sekundären Hämostase

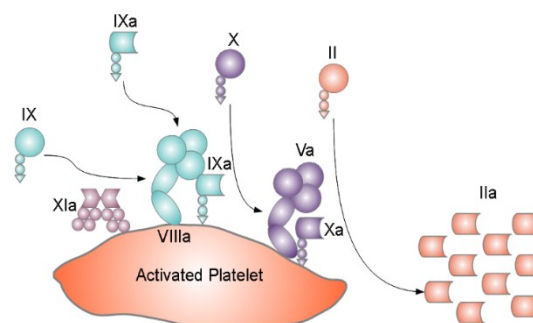


Ref.: Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut

Das Kaskadenmodell spiegelt jedoch nur unzureichend die Verhältnisse in vivo wider. Seit 2001 stellt das **zellbasierte Modell** nach Hoffman und Monroe die Blutgerinnung in vivo anhand von sich drei überlappenden Phasen dar: Initial-, Amplifikations- und Propagationsphase. [4]

In der Initialphase gelangt aus dem Subendothel der tissue factor (TF) nach außen und aktiviert zusammen mit aktiviertem Faktor VII (F-VIIa) aus dem Plasma geringe Mengen an F-IX und F-X. [4] Der an der Zelloberfläche-befindliche F-Xa aktiviert den F-V und bildet gemeinsam mit ihm einen Komplex, der bereits kleine Mengen an Thrombin produziert. [4] In der Amplifikationsphase aktiviert Thrombin weitere Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten. Somit stehen in der Propagationsphase genügend viele aktive Komplexe auf der Thrombozytenoberfläche bereit, die eine große Menge an Thrombin aktivieren können. [4] Überlappend mit allen Phasen erfolgt durch den F-Va-Xa-Komplex in großen Mengen die Aktivierung von Thrombin (Thrombin-Burst), die in Abbildung 4 ersichtlich ist. Somit steht ausreichend Thrombin für die Bildung eines stabilen Fibringerinnsels zur Verfügung. [4]

Abbildung 4: Propagationsphase



Ref.: Priv.-Doz. Mag. Dr. Axel Schlagenhaut

1.1.3.1 Rolle der Thrombozyten in der sekundären Hämostase

Wie bereits im Kapitel 1.1.2 beschrieben, sind Thrombozyten essenziell für die primäre Hämostase. In der sekundären Hämostase sind dies hingegen überwiegend die verschiedenen Gerinnungsfaktoren. Die sekundäre Hämostase wird am Ende der primären Hämostase eingeleitet, die ohne den Thrombozyten in ihrer Form so nicht stattfinden kann. Welche Rolle die Thrombozyten dabei übernehmen wird im folgenden Kapitel erläutert.

Von den Thrombozyten werden unter anderem folgende Mediatoren für die sekundäre Hämostase bereitgestellt (siehe Tabelle 1): Aus den α -Granula wird Fibrinogen, Faktor VIII und Faktor V freigesetzt. Aus den δ -Granula werden ADP und Ca^{2+} für die Komplexbildungen zur Verfügung gestellt.

Im Kaskadenmodell dienen die Faktoren V und VIII aus den α -Granula als **Kofaktoren**: Der Faktor VIII bestärkt durch die Komplexbildung mit F-IXa die Aktivierung von F-X. Der Faktor V dient als Kofaktor zum F-Xa bei der Bildung des Prothrombinaktivator-Komplexes, wobei Thrombin aus Prothrombin entsteht. [3]

Im zellbasierten Modell stellen aktivierte Thrombozyten ihre **Oberfläche** zur Verfügung, damit die aktivierten Komplexe in der Propagationsphase akkumulieren können, um dadurch große Mengen an Thrombin zu aktivieren. [4]

Die Fibrinfäden, die dem Thrombus seine **Stabilität** verleiht, entstammen unter anderem aus der Abspaltung von Fibrinogen aus den α -Granula. Dieser Abschnitt findet sich in beiden Modellen der sekundären Hämostase wieder: Aktiviertes Thrombin spaltet das Fibrinogen zu einem Fibrinopeptid. Somit entstehen Fibrinmonomere, die sich zunächst zu einem feinen Fibrinpolymer zusammenschließen, um sich anschließend mithilfe von F-XIIIa zu einem stabilen Thrombus zu festigen. [1]; [4]

Daraus lassen sich die Hauptaufgaben der Thrombozyten während der sekundären Hämostase zusammenfassen:

1. Die Faktoren V und VIII als **Kofaktoren**, die die Gerinnungskaskade unterstützen. [3]
2. Die Thrombozytenoberfläche als **Ort der Aktivierung** von Gerinnungsfaktoren. [4]
3. Die **Stabilisierung** des zuvor instabilen Thrombus durch die Freisetzung von Fibrinogen. [3]

1.1.4 Thrombozytenfunktion im Säuglings- Kindes- und Jugendalter

Das folgende Kapitel beschreibt das hyporeaktive Verhalten der Thrombozyten von Neugeborenen und dessen Verlauf in der kindlichen Entwicklung.

Expressionsrate von GPIIb/IIIa

Die Studie von Hézard et al. untersuchte mittels Durchflusszytometrie die exprimierte Menge an GPIIb/IIIa aus Vollblut von Neugeborenen und Kindern und stellte sie mit den der Erwachsenen gegenüber. [5]

Wie im Kapitel 1.1.2 bereits erläutert, wird GPIIb/IIIa für die Anhaftung von Fibrinogen und Thrombospondin benötigt, um die Thrombozyten untereinander zu vernetzen, damit sich das Thrombozytenaggregat bilden kann. [1]

Die Studie ergab, dass Kinder und vor allem Neugeborene eine verringerte Expressionsrate von GPIIb/IIIa im Vergleich zu Erwachsenen aufweisen. [5] Die Expressionsrate konnte mittels bindender Antikörper für den jeweiligen Rezeptor quantifiziert werden: So bindet CD41a an GPIIb/IIIa bis zum zweiten Lebensjahr vermindert und CD61 an GPIIIa sogar bis zum 15. Lebensjahr. [5]

Bindungsfähigkeit von Fibrinogen zu GPIIb/IIIa

Hézard et al. überprüfte die Bindungsfähigkeit von GPIIb/IIIa mit Fibrinogen und die daraus resultierte Konformationsänderung. Für Fibrinogen wurde ein polyklonaler Antikörper von Hühnern verwendet und für die Konformationsänderung der monoklonaler Antikörper PAC-1. [5] Die Ergebnisse zeigen Unterschiede in allen Altersgruppen auf, wobei sich auch hier der größte Unterschied zwischen den Neugeborenen zu den Erwachsenen beläuft. [5]

Die Ergebnisse von Hézard et al. belegen eine niedrigere Expressionsrate von GPIIb/IIIa nicht nur im neonatalen Stadium, sondern auch über mehrere Lebensjahre hinweg. [5] Außerdem konnte die Studie auch die verminderte Bindungseigenschaft von Fibrinogen zu GPIIb/IIIa darlegen, was für eine physiologisch verminderte Thrombozytenhypoaggregation spricht. [5]

Weitere Beobachtungen über die physiologische Thrombozytenhypoaggregation bei Neugeborenen erfolgte in der Studie von Sola-Visner. [6] Dabei konnte ein vermindertes Ansprechen der Thrombozyten von gesunden Reifgeborenen aus Nabelschnurblut auf die Agonisten ADP, Epinephrin, Kollagen, Thrombin und Thromboxan im Vergleich zu Erwachsenen erfasst werden. [6]

Qualität des Fibrinogens

Fibrinogen bei Reifgeborenen besitzen im Gegensatz zu adultem Fibrinogen einen höheren Sialinsäure- und Phosphorgehalt, was die Polymerisation von Fibrin aus Fibrinogen beeinflusst. Obwohl Neugeborene und Kinder weniger Fibrinogen besitzen, verhält sich ihre Aktivität gleich zu dem des adulten Fibrinogens. [7]

Blutungszeit

Die Hyporeaktivität würde für eine erhöhte Blutungsneigung bei Reifgeborenen sprechen, die Klinik wiederum zeigt ein anderes Bild. So fällt die Blutungszeit bei Reifgeborenen im Vergleich zu Erwachsenen kürzer aus. [6]

Unter hohen Scherkräften, wie es bei der Thrombozytenfunktionsmessung mittels PFA-100[®] der Fall ist, aggregieren die Thrombozyten von Neugeborenen gleich bis vermehrt sowohl im Vergleich zu den der adulten Thrombozyten, als auch in der Durchflusszytometrie, die ohne hohe Scherkräfte arbeitet. [5]

Dies würde für eine scherabhängige vWF-vermittelte Thrombozytenaktivierung sprechen, die das hyporeaktive Verhalten bei Neugeborenen ausgleichen kann. [5] Außerdem weisen Säuglinge und ältere Kinder in der Studie von Hézard et al. eine höhere Thrombozytenzahl auf, wodurch eine mögliche Kompensation der Thrombozytenaktivität zusätzlich stattfindet. [5]

Verlauf der Thrombozytenhypoaggregation

Die entwicklungsbedingten Veränderungen belaufen sich über die gesamte Kindheit, wobei die zentralen Unterschiede zwischen den Frühgeborenen, Reifgeborenen und Kindern sich wie folgt zusammenfassen lässt:

Frühgeborene weisen sowohl ein hyporeaktives Verhalten der Thrombozyten selbst, als auch im Rahmen der Thrombozytenaggregation und -adhäsion auf. Sie besitzen im Vergleich zu den Reifgeborenen eine verlängerte Blutungszeit, selbst unter hohen Scherkräften. [7]

Reifgeborene besitzen eine reduzierte Thrombozytenaggregation und Expression von Oberflächenrezeptoren zur Thrombozytenaktivierung. Die vWF-bedingte Thrombozytenadhäsion ist im Vergleich zu den Erwachsenen erhöht. Daraus resultiert eine kürzere Verschlusszeit unter der Anwendung von PFA-100®. [7]

Der Zeitpunkt, an dem die Kinder die gleiche Thrombozytenfunktion wie Erwachsene aufweisen, ist nicht genau definiert. Den größten Sprung widerfahren die Neugeborenen in den ersten Lebenswochen, wobei gestationsabhängige Unterschiede bis zu 10 Wochen bestehen können. [7] Eine allmähliche Angleichung betreffend der Thrombozytenhypoaggregation erfolgt über die gesamte Kindheit, wobei eine verminderte Reaktion bis zum 15. Lebensjahr bestehen kann. [7] Dies spiegelt sich vor allem in einer verminderten Expressionsrate von GPIIb/IIIa bis zum zweiten Lebensjahr und GPIIIa bis zum 15. Lebensjahr wider. [5]

Referenzbereiche

Zusammenfassend exprimieren Kinder - vor allem Neugeborene - physiologisch bedingt geringere Mengen an prokoagulatorischen Gerinnungsfaktoren und verhalten sich besonders im Rahmen der Thrombozytenaggregation hyporeaktiv. Daher würden sich für Thrombozytenfunktionsmessungen altersabhängige Referenzbereiche eignen, um zwischen physiologisch und pathologisch bedingten auffälligen Messwerten differenzieren zu können. [5]

1.2 Pathologien der primären Hämostase

Das in der Studie verwendete Multiplate® beschäftigt sich mit der Aufdeckungsrate von Thrombozytopathien im Allgemeinen, jedoch speziell mit der Überwachung von Thrombozytenaggregationshemmern.

Die hereditären Thrombozytopathien im deutschsprachigen Raum (Deutschland, Schweiz und Österreich) kommen mit etwa 2 Kindern / 1 Millionen Einwohner vor und gehören somit laut European Commission zu den seltenen Erkrankungen. [8], [9]

Thrombozytopathien lassen sich in angeboren oder erworben, sowie in Hinsicht auf ihre Funktionsstörung unterteilen. Eine detaillierte Auflistung darüber lässt sich in Tabelle 2 finden.

Das Kapitel 1.2.1 handelt von ausgewählten hereditären Thrombozytopathien, während das Kapitel 1.2.3 sich mit Thrombozytenaggregationshemmer-induzierte Thrombozytopathien beschäftigt.

Auch Störungen von plasmatischen Faktoren können die primäre Hämostase beeinflussen und müssen daher von Thrombozytopathien abgegrenzt werden. [10] Dazu zählt das von-Willebrand Syndrom, womit sich das Kapitel 1.2.2 beschäftigt.

Bevor auf die Thrombozytopathien eingegangen wird, werden die einzelnen diagnostischen Schritte zur Diagnosefindung zunächst begutachtet.

Tabelle 2: Übersicht über angeborene und erworbene Thrombozytopathien und dem Ort der Funktionsstörung

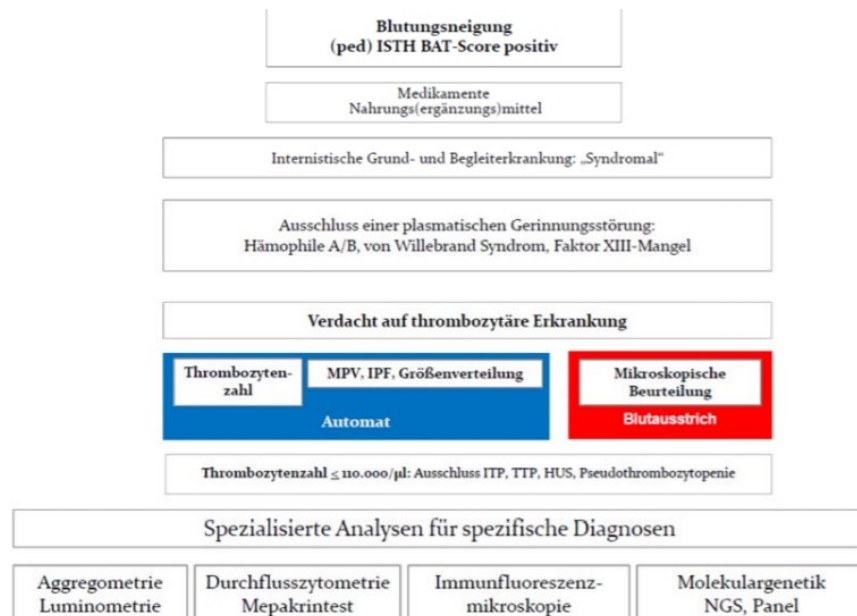
Überwiegend gestörte Thrombozytenfunktion	Angeboren	Erworben
Thrombozytenanhaftung	-Kollagenrezeptordefekte (GPIa, GPIIb) -Bernard-Soulier-Syndrom -Von-Willebrand-Syndrom	-Medikamente (Dipyridamol) -Lebererkrankungen -Urämie -erworbenes vWS
Thrombozytenaggregation	-Thrombasthenie Glanzmann -Afibrinogenämie	-myeloproliferatives Syndrom -Fibrin(ogen)spaltprodukte bei Verbrauchskoagulopathie -Lebererkrankungen -fibrinolytische Therapie -Makromoleküle (z.B. Praproteine, Dextran) -Medikamente (ASS, Fibrinogenrezeptorantagonisten, Clopidogrel)
Freisetzung aus α - und δ -Granula	- δ -Storage-Pool-Defekte -Gray-Platelet-Syndrom (α -Granula) -Hermansky-Pudlak-Syndrom (δ -Granula) -Chédiak-Higashi-Syndrom (δ -Granula)	-Myelodysplasie -kardiopulmonale Bypasschirurgie -Autoimmunerkrankungen -Medikamente (z.B. Reserpin, Methysergid)
Freisetzungsmechanismus generell	-Cyclooxygenase-Defekt -Thromboxan-Synthetase-Defekt	-gestörte Megakaryozytopoese bei myelodysplastischem Syndrom -Medikamente (z.B. ASS, andere NSAID, Furosemid, Nitrofurantoin) -Alkohol -Diät
Nukleotidmetabolismus	-Glykogenspeicherkrankheit -Fruktose-1,6-Diphosphat-Mangel	-Medikamente (Phosphodiesteraseinhibitoren) -Stimulatoren der Adenylcyclase (PGI ₂ , PGD ₂)
Thrombinbildung	-Plättchenfaktor-3-Defekt -Faktor-V-Rezeptordefekt -Scott-Syndrom	-Medikamente (Heparine, Hirudin, synthetische Thrombininhibitoren)

Ref: H. D. Bruhn, V. Hach-Wunderle, C. Schambeck und R. Scharf, Hämostaseologie für die Praxis: sicher durch den klinischen Alltag, 2. Hrsg., Stuttgart: Schattauer, 2011, p. 300.

Diagnostisches Vorgehen

Die Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung e.V. schaffte eine Leitlinie zur Diagnosefindung von Thrombozytopathien, die in Abbildung 5 dargestellt ist. [11] Die Leitlinie wird auf Stufen aufgebaut, wobei mit der Blutungsanamnese begonnen wird und der (ped) ISTH BAT-Score als Unterstützung dient. Dieser Score bewertet die Blutungsauffälligkeit und nimmt dabei Rücksicht auf das Geschlecht und Alter. [11] Die Leitlinie führt schrittweise zur Erhärtung der Verdachtsdiagnose einer Thrombozytopathie und unterscheidet, unter anderem ob eine hereditäre oder erworbene Thrombozytopathie oder eine plasmatische Gerinnungsstörung vorliegt. [11]

Abbildung 5: Diagnosealgorithmus bei Thrombozytopathien



Ref: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/086-003I_S2k_Diagnostik_Thrombozytenfunktionsstoerungen_Thrombozytopathien_2018-09.pdf
(14.08.2020)

Der Goldstandard für die spezifische Diagnostik zur genauen Klassifizierung einer Thrombozytopathie ist die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) oder Thrombozytenaggregation nach Born. Ihre genaue Methodik wird im Kapitel 1.3.2 beschrieben. Das in der Studie verwendete Multiplate® scheint der LTA gleichwertig zu sein, jedoch fehlen hierzu noch genauere Daten und Studien. [12] PFA-100® weist bei schweren Thrombozytopathien eine hohe Sensitivität auf. Bei milden Defekten hingegen eine Sensitivität von 20 – 80%, wodurch ein unauffälliger PFA-100® Test eine Thrombozytopathie nicht ausschließen kann. [12]

1.2.1 Hereditäre Thrombozytopathien

Angeborene Thrombozytopathien sind selten, äußern sie sich dennoch fast alle durch eine erhöhte Blutungsneigung. [10] Im folgenden Kapitel werden die hereditären Thrombozytopathien näher erläutert. Wie bereits erwähnt stellt die LTA den Goldstandard in der Diagnostik der Thrombozytopathien dar, weshalb die folgenden Thrombozytopathien mit dieser Methodik begutachtet werden.

Thrombasthenie Glanzmann (GT)

GT ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die zu einem Mangel bzw. zu einer Dysfunktion des GPIIb/IIIa-Rezeptors führt. Dieser ist der am stärksten exprimierte Rezeptor der Thrombozytenmembran und beteiligt sich maßgeblich an der Thrombozytenaggregation. [10] Da der Rezeptor auch Einfluss auf adhäsive Proteine hat, kommt es bei GT zu einer kombinierten Störung der Aggregation und Adhäsion. Es gibt drei Formen der GT, wobei Typ 1 mit einem Anteil von 75% am Häufigsten vorkommt. Typ 1 besitzt einen GPIIb/IIIa-Gehalt von <2%, was zu einer fehlenden Gerinnselretraktion und einer stark reduzierten Fibrinogenbindung an Thrombozyten führt. [10]

In der körperlichen Untersuchung präsentieren sich die Betroffenen mit Purpura, Schleimhautblutungen, Epistaxis, Menorrhagien sowie ausgedehnter Hämatome bei kleinen operativen Eingriffen und Verletzungen. Bei schweren Verletzungen oder großen Operationen kann GT mit erhöhtem Blutverlust einhergehen, der lebensbedrohliche Ausmaße annehmen kann. [10]

Die Blutungsneigung ist abhängig vom GPIIb/IIIa-Besatz. Bei >50% sind die Betroffenen meistens klinisch unauffällig. Im Labor ergibt sich folgendes Bild:

- eine verlängerte Blutungszeit bei normaler Thrombozytenzahl [10]
- eine fehlende Aggregation bei Thrombozytenstimulation [10]
- eine verminderte Thrombozytenadhäsion [10] und
- eine gestörte Gerinnselretraktion. [10]

Im LTA zeigt die GT eine stark verminderte Stimulation auf die Agonisten ADP, Kollagen, Epinephrin und Arachidonsäure. Einzig mit dem Agonisten Ristocetin weist GT eine normale Thrombozytenstimulation auf. [12]

Bernard-Soulier-Syndrom (BSS)

BSS ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die charakteristisch mit einem Mangel an Glykoprotein Ib einhergeht. Weiters können die GP V und IX betroffen sein. Der GPIb-Komplex vermittelt die Adhäsion von vWF an das Endothel. [10] Die Einordnung in Typen erweist sich hier als äußerst schwierig, da es keine Korrelation zwischen Ausmaß des GP-Defekts zu der Schwere der klinischen Präsentation gibt, sowie das gänzliche Fehlen bzw. die Restmengen von GP variabel ausfallen. [10]

Für den Rezeptorkomplex GPIb/IX/V werden alle Untereinheiten benötigt, damit sie als funktionsfähiger Rezeptor auf der Thrombozytenmembran wirken können. Es wurde bereits eine Punktmutation im GPIb α Gen lokalisiert, die zu BSS führt. Auch andere Mutationen des GP IX sind bekannt, die jedoch sehr selten auftreten. [10]

In der körperlichen Untersuchung präsentieren sich die Betroffenen bereits im Kindesalter durch Epistaxis, Zahnfleischblutungen, gastrointestinale Blutungen und häufig Menorrhagien. Das Blutungsrisiko reicht von erhöhter Hämatomneigung bis hin zu schweren transfusionsbedürftigen Blutungskomplikationen. [10]

Das Labor ergibt:

- eine verlängerte Blutungszeit [10]
- Riesenthrombozyten [10]
- eine normale bis verlangsamte Aggregation auf den Stimulus Thrombin [10]
- und speziell eine fehlende Agglutination mit Ristocetin. [10]

In der LTA erkennt man BSS durch eine verminderte Thrombozytenantwort auf Ristocetin bei normaler Stimulation mit den Agonisten ADP, Kollagen, Epinephrin und Arachidonsäure. [12] Mit Ristocetin lässt sich die Funktion von vWF und GPIb/V/IX beurteilen. [13] Die genaue Diagnostik von vWS wird im Kapitel 1.2.2 näher erläutert. Ein wesentlicher Unterschied zum BSS besteht darin, dass sich BSS durch Spenderplasma nicht therapieren lässt, wie es bei vWS der Fall ist. [10]

δ-Storage-Pool-Defekt

Ein Storage-Pool-Defekt (SPD) kann isoliert oder in Kombination mit anderen Krankheitsbildern als definierte Erkrankung auftreten. Isoliert tritt der Defekt als autosomal-dominante Erkrankung auf, welche durch das Fehlen oder einen Mangel an Dense Bodies (δ-Granula) verursacht wird. [10] Er präsentiert sich durch eine milde Blutungsneigung, wobei er in Kombination mit anderen Krankheitsbildern als ausgeprägte Diathese zum Vorschein kommen kann. [10]

Im Labor ergeben sich:

- verlängerte Blutungszeiten [10]
- normale bis verminderte Thrombozytenzahl [10]
- gehemmte Aggregation durch Kollagen als Stimulus [10]
- sowie ein erhöhter ATP/ADP-Quotient. [10]

Die im Folgenden beschriebenen Chédiak-Higashi-Syndrom und Hermansky-Pudlak-Syndrom zählen zu den definierten Erkrankungen des SPD. [10]

Chédiak-Higashi-Syndrom (CHS)

CHS präsentiert sich als eigenständige Erkrankung mit einem Symptomkomplex aus einem okulokutanen Albinismus und einer erhöhten Infektanfälligkeit mit gesteigerter Blutungsneigung. Diese Erkrankung ist äußerst selten und wird autosomal-rezessiv vererbt. [10]

Hermansky-Pudlak-Syndrom (HPS)

HPS ist eine autosomal-rezessive SPD-Erkrankung in Kombination mit Albinismus, Zeroideinlagerung in den Makrophagen sowie Spontanblutungen bei normaler Thrombozytenzahl. Dabei ist die Bildung von intrazellulären Vesikeln in den Melanosomen, den Dense Bodies und den Lysosomen gestört. [10]

Die Molekulargenetik unterscheidet drei Typen hinsichtlich ihrer Genloci, wobei insgesamt acht HPS-Mutationen nachgewiesen werden konnten. Bei HPS-1 entwickeln Betroffene eine pulmonale Fibrose. HPS-2 betrifft nur Wenige und präsentiert sich mit mildem okulokutanen Albinismus, milden Blutungsdiathesen, Neutropenien und erhöhten Infektanfälligkeiten im Kindesalter. [10]

Der dritte Typ hat eine Mutation im HPS-3 Gen, woraus ein milder okulokutaner Albinismus mit fehlenden Dense Bodies resultiert, der auch mit einer leichten pulmonalen Fibrose einhergehen kann. [10]

Im Labor ergeben sich:

- eine ausbleibende sekundäre Aggregation [10]
- eine gestörte ADP-Sekretion [10] und
- fehlende Dense Bodies. [10]

α -Storage-Pool-Defekt

Dazu zählt das Gray-Platelet-Syndrom, welches sich entweder mit einem Mangel oder völligem Fehlen der α -Granula präsentiert. [10] Der Defekt beruht auf einer Mutation im Neurobeachin-like 2 (3p21) Gen und geht mit einer Makrothrombozytopenie einher. [14]

Neben einer erhöhten Blutungsneigung präsentiert sich diese autosomal-dominante Erkrankung mit einer Osteomyelofibrose. [10]

Sowohl δ - und α -Storage-Pool-Defekte ähneln sich in der LTA. Sie weisen eine normale Thrombozytenstimulation auf Ristocetin auf, während die Agonisten ADP, Kollagen, Epinephrin und Arachidonsäure normal bis vermindert sein können. [12] Eine genaue Differenzierung der Diagnose erfolgt mittels Elektronenmikroskops, die das Fehlen der Dense Bodies bzw. den Defekt in den α -Granula nachweist. [10]

1.2.2 von-Willebrand Syndrom

Das von-Willebrand Syndrom (vWS) bezeichnet eine Gruppe von unterschiedlichen Defekten des von-Willebrand-Faktors (vWF).

Je nach Subtyp präsentieren sich quantitative oder qualitative Defekte. [10] Historisch unterteilt man drei große Typen, die sich in weitere Subtypen gliedern:

Typ 1

Verschiedene Ursachen können zu einem vWS Typ 1 mit zu niedrigen vWF-Konzentrationen führen, darunter eine verminderte Synthese des vWF bei einer annähernd normalen Verteilung der Multimere. [15] Seltener kommt eine heterozygote Typ 2 Mutation als Ursache in Frage. Dabei werden die Moleküle hinsichtlich ihrer Faltung gestört und es verbleiben nur wenige Dimere, die die Multimerisation durchlaufen. Daneben verursacht ein erhöhter Abbau von vWF zusätzlich eine niedrige vWF-Konzentration. [10]

Typ 1 mit 80-90% aller vWS-Fälle präsentiert sich mit Epistaxis, Hämatomneigung, Hypermenorrhoe und Schleimhautblutungen. Speziell nach operativen HNO-Eingriffen kommt es gehäuft zur Epistaxis. [10]

Typ 2

Der vWS Typ 2 untergliedert sich in fünf Subtypen, die alle zu qualitativen Defekten in der Funktion oder der Struktur des vWF führen. [10] [15]

Typ 2A

Der Typ 2A fasst mehrere Phänotypen der alten Nomenklatur zusammen und umfasst die alten Phänotypen IIA, IIC, IID und IIE. Mutationen bei Typ 2A werden bis auf den Phänotyp IIC autosomal-dominant vererbt. [10]

Die Mutationen im Phänotyp IIA und IIC führen an verschiedenen Domänen zum Fehlen großer Multimere. [15] Die Phänotypen IID und IIE werden beim Typ 3 näher erläutert. [10]

Typ 2B

Bei diesem Subtyp führt eine Mutation an der A1-Domäne zur verstärkten GPIIb-Bindung. [10] Daraus resultiert eine verringerte Anzahl an großen Multimeren. Bei vielen kleinen Multimeren ist keine effiziente Thrombozytenadhäsion möglich. [15]

Typ 2M

Die GPIIb-Interaktion ist bei diesem Typ infolge einer Mutation vermindert bzw. fehlend. Daraus resultiert eine Bindungsstörung an den Thrombozyten und dem Endothel trotz Ausbildung normaler großer Multimere. [10]

Typ 2N

Liegt ein Defekt an der F-VIII-Bindung vor, so gehört er den Typ 2N an. Es existieren Kombinationen von Typ 2M und Typ 2N. [10]

Typ 3

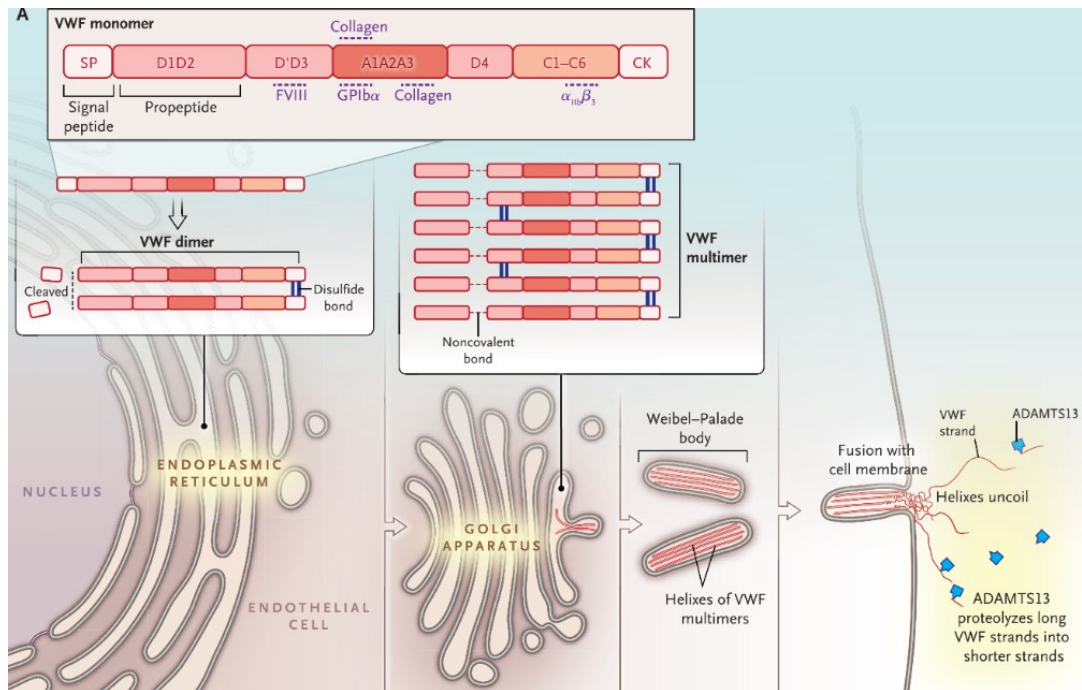
Dieser Typ führt zu einem gänzlichen Fehlen des vWF. Seine Mutationen sind meistens Deletionen, die sich über das gesamte Gen verteilen.

Sonderfälle sind homozygote Mutationen, die zum vollständigen Verlust des vWF führen. Dabei liegt eine homozygote Mutation der CK-Domäne vor, die sich durch eine fehlende Bindung am carboxyterminalen Ende der CK-Domäne präsentiert. [10] [15] Die genannte Bindung lässt sich in Abbildung 6 veranschaulichen.

Dadurch erfolgt keine Multimerisation der Dimere und führt somit zu keinem fertigen vWF. Liegt diese Mutation heterozygot vor, so gehört sie dem Typ 2A (Phänotyp IID) an. Eine weitere homozygote Mutation befindet sich in der D3-Domäne mit gestörter Multimerisation am aminoterminalen Ende. Ist diese Mutation heterozygot, so gehört sie dem Typ 2A (Phänotyp IIE) an. [10] [15]

Klinisch weisen Betroffene eine massive Blutungsneigung auf, zusätzlich leiden alle unter Hämatomen und Schleimhautblutungen. Frauen weisen zusätzlich eine Hypermenorrhoe auf, die eine schwere Anämie mit sich ziehen kann. Auch Männer erleiden im Laufe ihres Lebens eine Anämie. Als einziger Typ des vWS weisen die Hälfte aller Betroffenen eine Gelenksblutung auf. Bei Operationen (ohne F-VIII-Substitution) führt sie zu starken Nachblutungen. [10]

Abbildung 6: von Willebrand Faktor-Biosynthese



Ref: <https://www.news-medical.net/news/20200921/Providing-personalized-care-for-bleeding-disorders.aspx> (25.09.2020)

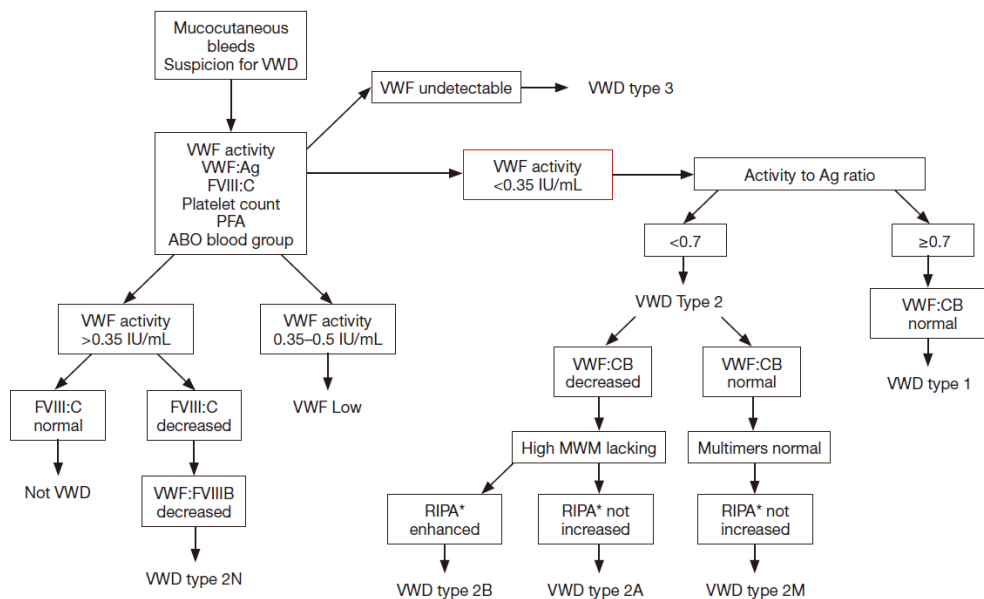
Labordiagnostik

Im Labor lassen sich die drei Typen des vWS anhand von Messungen der vWF-Parameter und dem F-VIII grob unterscheiden. Zur Orientierung kann man sich die Abbildung 7 zur Unterstützung hinzuziehen.

Zu den vWF-Parametern gehören:

- vWF:Ag: Quantifiziert die Menge an vWF im Plasma. [16]
- vWF:RCo: Beurteilt die Fähigkeit von vWF zur Thrombozytenaggregation nach der Hinzugabe von Ristocetin. [16]
- vWF:CB: Quantifiziert die Fähigkeit von vWF an Kollagen zu binden. [16]
- vWF:F-VIIIC: Beurteilt die Gerinnungsaktivität von F-VIII. [16]
- vWF:F-VIIIB: Misst die Fähigkeit der Bindung von vWF an F-VIII. [16]

Abbildung 7: Diagnosealgorithmus für vWS; RIPA: Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregations-Test



Ref: <https://aob.amegroups.com/article/view/4250/4979> (14.08.2020)

Eine gleichmäßige Verringerung aller vWF-Parameter trifft auf den vWS Typ 1 zu, während bei einem vWS Typ 3 alle vWF-Parameter unter der Nachweisgrenze liegen. [15] Eine starke Abnahme des vWF:RCo (oder vWF:CB) und F.VIII deutet auf einen der Subtypen von vWS Typ 2 hin. Zur Klassifizierung der Subtypen von vWS Typ 2 werden meistens spezielle Laboratorien benötigt, da beinahe jeder Subtyp einen eigenen Test benötigt. Für den Typ 2B behilft man sich mittels Ristocetin-induzierte Thrombozytenaggregations-Test (RIPA). [15]

Der RIPA beurteilt die Bindungsfähigkeit von vWF an den Thrombozyten mit drauffolgender Thrombozytenaggregation. Dieser Test wird in unterschiedlicher Ristocetinkonzentration durchgeführt und bewertet. [16]

Ein Typ 2B präsentiert sich mit erhöhten Ergebnissen beim RIPA Test, während er bei den Subtypen 2A und 2M erniedrigt ist. Die Typen 2A und 2M werden mittels Multimer-Gelelektrophorese voneinander unterschieden, wobei der Typ 2M im Gegensatz zum 2A physiologische Multimere aufweist. [15]

Um den Typ 2N zu erkennen, werden die vWF:F-VIII:C und vWF:F-VIIIIB beurteilt, die typischerweise bei diesem Subtyp erniedrigt sind. [15]

Mittels der vWF-Aktivität lässt sich zwischen einem vWS Typ 1, einem vWS Typ 2 und einer isolierten Erniedrigung des vWF unterscheiden. Die vWF-Aktivität setzt sich aus dem Quotient aus vWF:RCo / vWF:Ag zusammen. Die Bedeutungen der einzelnen Ratio lassen sich aus der Abbildung 7 entnehmen und führen zur Diagnose des jeweiligen vWF Typs. [15]

Probleme treten bei der Charakterisierung von subtilen Defekten auf, wie verkleinerte Multimere, außerdem fehlt die Standardisierung von Multimeranalysen zur Erkennung eines echten oder künstlichen Verlusts großer Multimere. [15]

PFA-100® und Multiplate® in Hinblick auf die Diagnostik des vWS

PFA-100® weist eine hohe Sensitivität für vWS auf, jedoch liegt die Spezifität bei gerade etwa 40%. Auch bei Patienten und Patientinnen mit mukokutanen Blutungsauffälligkeiten erweist sich PFA-100® für den vWS Typ 1 als nicht sensitiv. Dadurch, dass PFA-100® mit hohen Scherkräften arbeitet, erbringt sie auch bei der Therapieüberwachung des vWS keine hohe Sensitivität. [17]

Multiplate® arbeitet mit einer geringen Menge an Vollblut und mehreren Agonisten, darunter auch Ristocetin, welches für die Diagnostik des vWS essenziell ist. Es existieren von Multiplate® nur wenig Daten über die Detektionsrate von Thrombozytopathien und anderen Störungen der primären Hämostase (z.B. vWS). Daher basiert die Beurteilung der Detektion des vWS auf der Studie von Schmidt et al. [17]

Multiplate® arbeitet mit der Einheit von Units (U) und je nachdem welcher Grenzwert für die Testung verwendet wird, ergeben sich unterschiedliche Sensitivitäten und Spezifitäten. Bei einem Grenzwert von 98 Unit ergibt sich eine Sensitivität für vWS von 95% und eine Spezifität von 53%. Legt man den Grenzwert auf 60 U, so liegt die Sensitivität bei 76% und die Spezifität bei 100%. [17] Multiplate® konnte in der Studie von Schmidt et al. alle Patienten und Patientinnen mit vWS Typ 3 und >90% der Patienten und Patientinnen mit vWS Typ 2 unterscheiden. Das macht ihn zu einem vielversprechenden diagnostischen Test in Bezug auf das vWS. [17]

Die Methodik von PFA-100® und Multiplate® werden im Kapitel 1.3 näher erläutert.

1.2.3 Erworbene Thrombozytopathien

Wie im Kapitel 1.2 in Tabelle 2 ersichtlich, führen einige Medikamente zu Störungen der Thrombozytenfunktion, darunter auch die Thrombozytenaggregationshemmer. Dieses Kapitel beschäftigt sich mit den Thrombozytenaggregationshemmern, durch die eine Therapiekontrolle mittels Multiplate® erfolgen kann.

Cyclooxygenase Hemmer

Die Cyclooxygenase (COX) lässt sich in COX-1 und COX-2 unterscheiden. In der Pharmakologie zählen die Cyclooxygenase Hemmer zu den nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), wobei sich die Substanzen hinsichtlich ihres selektiven Angriffspunktes auf COX-1 und / oder COX-2 unterscheiden. Sie wirken antiphlogistisch, analgetisch und antipyretisch. [18], [19]

NSAR führen mit Ausnahme von Acetylsalicylsäure (ASS) zur reversiblen Hemmung von COX. [20] ASS inaktiviert die Prostaglandin-Endoperoxid-Synthase (durch die irreversible Acetylierung des Serin-Rests der Cyclooxygenase) und führt damit zu einer Hemmung von Prostaglandin G₂, Prostaglandin H₂ und vor allem von Thromboxan A₂. [18], [19]

Die anderen NSAR Substanzen führen im Gegensatz zu ASS zu einer reversiblen Hemmung der COX. Dazu zählen z.B. Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac, Mefenaminsäure. Wie ASS hemmen sie beide Formen der COX, jedoch unterschiedlich stark. Dadurch unterscheiden sich diese Wirkstoffe in Wirkungsdauer und Blutungsrisiko. [18] Selektive COX-2-Hemmer, wie Celecoxib, hemmen die Thrombozytenaggregation nicht. [18]

Bereits eine Tablette von 80mg ASS reicht um TXA₂ effektiv zu blockieren. ASS kommt in der primären und sekundären Prävention vor und beruht hauptsächlich auf der Hemmung von TXA₂. [18] Als Primärprophylaxe dient ASS bei noch nicht stattgehabten thrombotischen Ereignissen mit vorhandenen Risikofaktoren, als Sekundärprophylaxe bei stattgefundenen arteriellen Gefäßverschlüssen (koronar, zerebral, peripher). [19] Bei akuten Verschlüssen im Rahmen eines Myokardinfarkts findet ASS als Akutmaßnahme Verwendung und senkt dabei die Mortalität. [19]

ASS führt bei gesunden Menschen zu einer leichten Beeinträchtigung der Blutgerinnung. Das Blutungsrisiko ist dosisabhängig und weist bei einer Dosis von <100mg das niedrigste Risiko auf. Die Abbildung 8 zeigt den Einfluss von ASS auf die Thrombozytenaggregation unter der LTA (Goldstandard). Die erhöhte Blutungsneigung bei ASS Einnahme lässt sich vielerorts finden: [18]

- Starke Blutungen bei Müttern und Neugeborenen während der Entbindung. [18]
- Erhöhte Neigung zu Hämatomen, Schleimhautblutungen, gastrointestinalen Blutungen bis zu transfusionsbedürftigem Blutverlust bei Gesunden ab einer Einnahme von 325mg ASS alle zwei Tage. [18]
- Vermehrte hämorrhagische Infarkte im Vergleich zu Placebogruppen. [18]
- Vermehrter Blutverlust, Bedarf an Transfusionen und Re-Operationen bei PatientInnen mit präoperativer ASS Einnahme vor einer Herzoperation. [18]
- Spontan- und postoperative Blutungen bei Defekten der Blutgerinnung oder gleichzeitiger Einnahme von oralen Antikoagulantien. [18]

Abbildung 8: Einfluss von ASS auf die Thrombozytenaggregation in der LTA

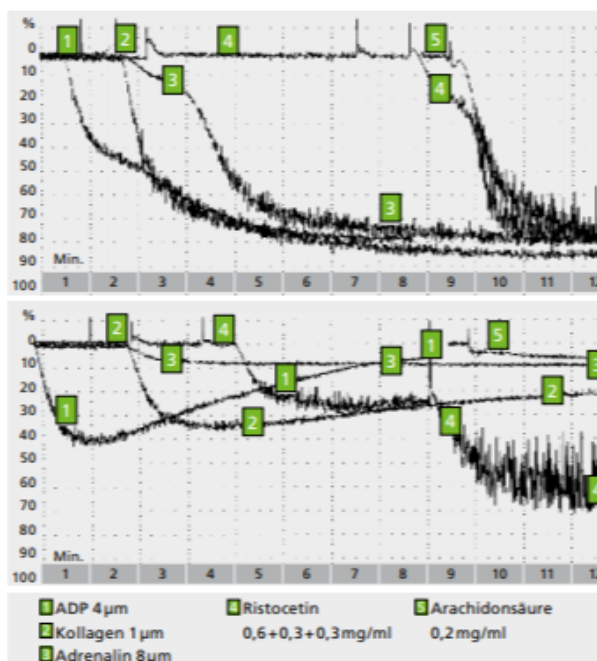


Abb. 1: oben Normalspender, unten Patient mit ASS-Therapie
Referenzbereich der Aggregationsmasse 60–90%

Ref: https://www.amedes-group.com/fileadmin/content/Service/Fachinformationen/134897-IS-Therapiemonitoring_ASS_Clopidogrel-121122.pdf (06.01.2021)

ADP-Rezeptor (P2Y₁₂) -Antagonisten

Zu den ADP-Rezeptor-Antagonisten zählen Thienopyridine und Ticagrelor. Thienopyridine wie Ticlopidin, Clopidogrel und Prasugrel hemmen die Thrombozytenfunktion, indem sie die Bindung von ADP an den P2Y₁₂-Rezeptor irreversibel blockieren. [18] In der Leber werden Thienopyridine über verschiedene CYP-Enzyme in aktive Metaboliten umgewandelt. Dadurch wirken diese Medikamente frühestens am zweiten Tag nach Einnahme. [19]

ADP-Rezeptor-Antagonisten aus der Thienopyridin-Gruppe hemmen die Thrombozytenaggregation ab dem zweiten Tag und erreichen nach vier bis sieben Tagen ihr Plateau. Ticlopidin und Clopidogrel verlängern die Blutungszeit um das 1,5- bis 2-fache. [18] Die Abbildung 9 zeigt den Einfluss von Clopidogrel auf die Thrombozytenaggregation unter der LTA.

Ticagrelor ist kein Prodrug und unterscheidet sich somit zu den anderen ADP-Rezeptor-Antagonisten über einen schnelleren Wirkungseintritt bei kürzerer Wirkungsdauer. Es hemmt die Thrombozytenaggregation reversibel und führt so zu einer einfacheren Steuerbarkeit. [19]

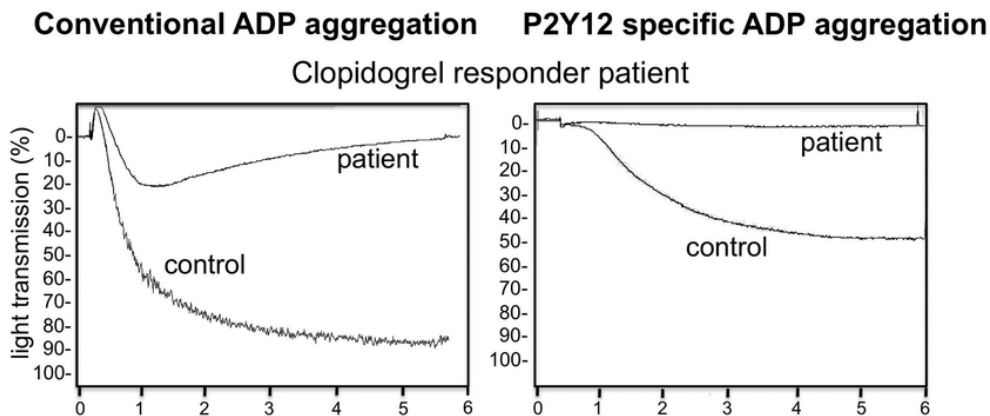
Ticlopidin und Clopidogrel bewirken eine Hemmung der Thrombozytenaggregation sowie eine Reduktion des zirkulierenden Fibrinogens. [21] Dies führt zu:

- einer reduzierten Erythrozytenaggregation [21]
- einer Stimulierung der Produktion von Nitritoxiden [21]
- einer Hemmung der Fibronektinsynthese und [21] und
- einer Hemmung der Expression von Tissue Faktor in den Endothelzellen [21]

In der Klinik kommen sie bei koronaren Interventionen (z.B. Stent-Implantation mit unterschiedlicher Anfangs- und Erhaltungsdosis), beim akuten Koronarsyndrom und als Second-Line-Therapie der Sekundärprophylaxe bei arteriellen thrombotischen Erkrankungen vor. [19]

Bei Clopidogrel, Prasugrel und Ticagrelor treten weniger Nebenwirkung als bei Ticlopidin auf. [19] Bei Ticlopidin kann es neben der erhöhten Blutungsneigung zusätzlich zur Neutropenie, Nausea und Diarrhoe kommen. Ticlopidin führt bei 1% aller PatientInnen zur Knochenmarkssuppression mit Beteiligung der Granulopoese und bei 0,02% zur thrombotisch-thrombozytopenischen Purpura. [21]

Abbildung 9: Einfluss von Clopidogrel auf die Thrombozytenaggregation in der LTA



Ref: https://www.researchgate.net/figure/Representative-ADP-aggregation-curves-demonstrating-the-effect-of-clopidogrel-treatment_fig8_248398565 (06.01.2021)

GPIIb/IIIa-Antagonisten

GPIIb/IIIa-Antagonisten können sowohl die Fibrinogenbindung als auch die Thrombozytenaggregation über mehrere Wege hemmen, da GPIIb/IIIa als Rezeptor für Fibrinogen und vWF dient. [20], [18]

GPIIb/IIIa-Antagonisten verwendet man intravenös beim akuten Koronarsyndrom und bei perkutanen Koronarinterventionen. [18] Die Hemmung der Quervernetzung führt dazu, dass kein Stimulus effizient am Thrombozyt wirken kann, was mit einer erhöhten Blutungsdauer einhergeht. Eine weitere Nebenwirkung ist das erhöhte Risiko einer immunvermittelten Thrombozytopenie. [18] Die Abbildung 10 zeigt den Einfluss von Tirofiban in der LTA und im Vergleich mit anderen Thrombozytenaggregationshemmern.

Zu den GPIIb/IIIa-Antagonisten zählen:

- der humanisierte monoklonale Antikörper gegen den GPIIb/IIIa-Rezeptor c7E3: Abciximab [18]
- das synthetisch-zyklische Heptapeptid mit einer KGD-Sequenz: Eptifibatid [18]
- der nichtpeptische Antagonist, das über die Bindung von RGD am GPIIb/IIIa wirkt und ihn somit blockiert: Tirofiban. [18]

Abbildung 10: Einfluss von Tirofiban auf die Thrombozytenaggregation in der LTA

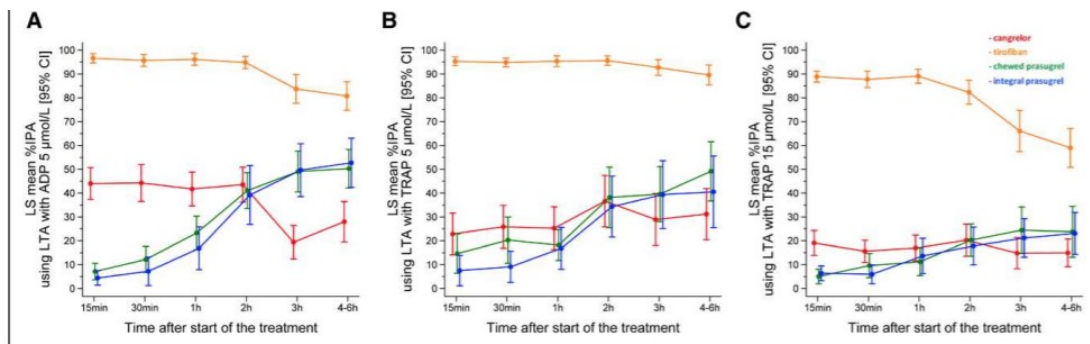


Figure 4. Pharmacodynamic effects of drugs measured by LTA.

Pharmacodynamic effects of drugs measured by LTA after stimulation with ADP 5 µmol/L (A) and TRAP 15 (B) and 5 (C) µmol/L. ADP indicates adenosine diphosphate; CI, confidence interval; IPA, inhibition of platelet aggregation; LS, least square; LTA, light transmittance aggregometry; and TRAP, thrombin receptor agonist peptide.

Ref: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046928> (06.01.2021)

1.3 Labordiagnostik

Die Diagnostik der primären und sekundären Hämostase ist nicht nur in der allgemeinen Routine wichtig, sondern speziell in der prä- und postoperativen Phase. Die Diagnostik umfasst die Anamnese, die körperliche Untersuchung und die Laboruntersuchungen. Einige Pathologien lassen sich hinsichtlich ihres Erscheinungsbildes erkennen, andere wiederum bedürfen einer gezielten Suche. Es gibt eine Vielzahl an verschiedenen Methoden, um Störungen der Thrombozytenfunktion zu detektieren: Angefangen bei der Blutungszeit (als erste Methodik in der Klinik) über die Lichttransmissionsaggregometrie (als der Goldstandard), bis hin zu den in der Studie verwendeten PFA-100® und Multiplate®.

1.3.1 Blutungszeit

Die Blutungszeit (BT) ist der erste in-vivo Test für die primäre Hämostase und bewertet die Zeit, von der Verletzung bis zur Bildung eines Thrombozytenaggregats. Der Test ist prompt und unkompliziert durchzuführen, jedoch äußerst abhängig von Hautdicke, Temperatur und der Anwendung selbst. [22] Ergänzend gibt es keinen eindeutigen Zusammenhang zur Klinik bzw. kann keine genaue Vorhersage des Blutungsrisikos anhand der BT getroffen werden. Die Ungenauigkeit bleibt trotz standardisierter Geräte für den Test weiter bestehen. [22] Dieser Test dient nicht zur Überwachung von Thrombozytenaggregationshemmern. Ausnahmen bilden Laboratorien, die keine anderen Thrombozytenfunktionstests besitzen, um Thrombozytopathien detektieren zu können. [22]

Die Durchführung der BT ist im Folgenden nach der Methode von Ivy beschrieben: [23] Der Oberarm wird mit einer Blutdruckmanschette auf 40mmHg aufgepumpt, danach erfolgt ein Hautschnitt mittels eines automatisch standardisierten Schnittgeräts. [23] Alle 30 Sekunden wird mit einem Filterpapier vorsichtig über die Wunde getupft bis die Blutstillung eintritt. [23]

Die Normzeit beträgt für Erwachsene <10 Minuten und für Kinder <7 Minuten. Eine verlängerte BT kann auf eine hämorrhagische Diathese hindeuten, eine normale BT kann diese jedoch nicht ausschließen. [23]

1.3.2 Lichttransmissionsaggregometrie

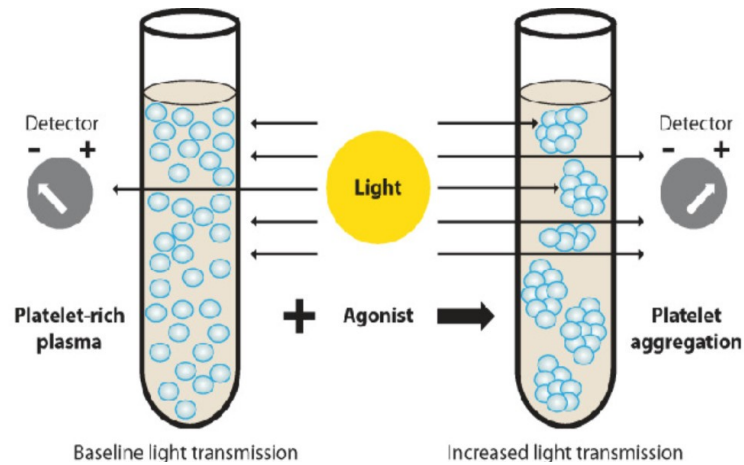
Die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) wurde 1962 erfunden und gilt bis heute als der Goldstandard für Thrombozytenfunktionstests. Sie bedient sich einer Vielzahl von Agonisten und verwendet plättchenreiches Plasma (PRP) als Probe. Ihr Grundprinzip beruht auf der Zunahme der Lichtdurchlässigkeit über die Zeit durch die Bildung von Thrombozytenaggregaten (vgl. Abbildung 11). [22]

Zu Beginn sind die Thrombozyten inaktiv und in der Küvette weit verstreut, wodurch sie wenig Licht durchlassen. Die Zugabe der Agonisten führt zur Thrombozytenaggregation, wobei die Thrombozyten verklumpen und absinken. Die Probe wird klarer und die Lichtdurchlässigkeit nimmt dementsprechend zu. [22]

Die Lichtdurchlässigkeit wird mittels Photometer aufgenommen und automatisch als grafische Kurve abgebildet, wobei 0% der maximalen optischen Dichte von PRP und 100% der optischen Dichte von plättchenfreiem Plasma (PPP) entspricht. Zudem werden maximale Steigung der Kurve, Ausmaß der Aggregation, Zeit bis zur völligen Aggregation, Formänderung sowie erste und zweite Aggregation dargestellt. [22]

Die LTA von Born ist die weitverbreitetste Methode zur Erkennung von Thrombozytenfunktionsstörungen und dient unter anderem zur Überwachung von Thrombozytenaggregationshemmern. [22] LTA benötigt straffe Auflagen um valide Ergebnisse zu liefern und sollte nur in ausgewählten Laboratorien mit geschultem Personal angewendet werden. [22] Die Thrombozytenzahl in PRP beeinflusst die Thrombozytenantwort auf die Agonisten und soll bei jeder Messung zusätzlich berücksichtigt werden. Die Durchführung von LTA ist vielschichtig (z.B. unterschiedliche Agonistenkonzentration) und wurde als wenig standardisiert beschrieben, weshalb 2009 eine Richtlinie zur Verwendung von LTA erarbeitet wurde. [22], [24]

Abbildung 11: Schema des LTA



Ref: <https://www.semanticscholar.org/paper/Antiplatelet-effect-of-aspirin-in-patients-with-Grove/0377985c0679064b886c05d9c83353098ea9a8d1> (19.11.2019)

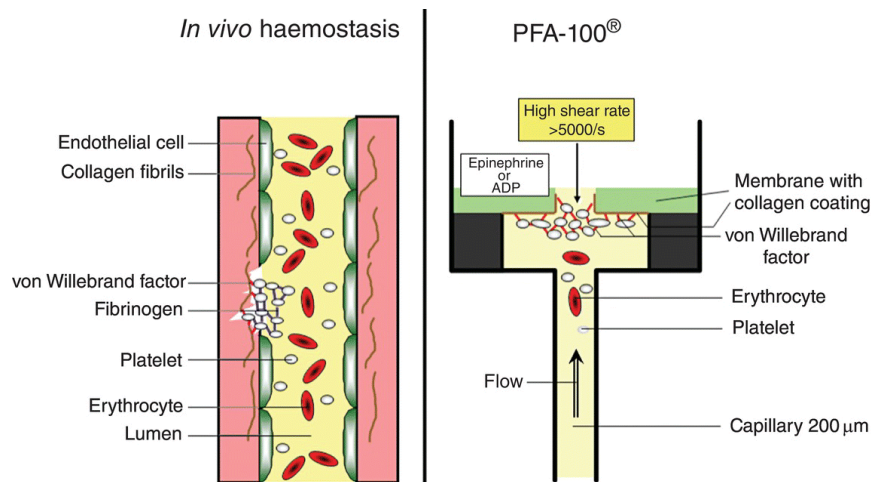
1.3.3 The Platelet Function Analyzer – PFA-100®

Dieser Thrombozytenfunktionstest dient als standardisierter Ersatz zur obsoleten Blutungszeit. [22] PFA-100® überprüft die Thrombozytenfunktion indem er die Verhältnisse eines verletzten Gefäßes in vitro nachahmt. [22] In der Testkapillare befindet sich eine Membran, die sowohl mit dem Thrombozytenagonisten als auch mit Kollagen beschichtet ist. [25] Die kollagenbeschichtete Membran dient als Ersatz des Subendothels. [22]

PFA-100® arbeitet mit den Agonisten Adenosindiphosphat (ADP) und Epinephrin (EPI), die alleine oder in Kombination verwendet werden können. [25] Der Test enthält zwei Patronen mit den Agonisten und arbeitet zudem mit Vollblut, das durch Citrat antikoaguliert ist. [22] Ein konstantes Vakuum von 40mbar aspiriert das Citratblut in die Kapillare mit der beschichteten Membran entlang zum Apparat. Die Thrombozyten sind in den Kapillaren hohen Scherkräften ausgesetzt und werden bei Kontakt mit der Membran von den Agonisten aktiviert. [25] In dieser Membran befinden sich mikroskopisch kleine Öffnungen, die von den Thrombozyten nach dessen Aktivierung verschlossen werden. [22]

Die Apparatur beobachtet, wie lange es dauert bis der Blutfluss zum Stillstand kommt bzw. bis zur Schließung der kleinen Öffnungen (= Verschlusszeit). [22] Die Verschlusszeit (VT) beträgt bei Gesunden 58-151 Sekunden mit dem Agonisten ADP und 94-202 Sekunden mit dem Agonisten EPI bei Verwendung einer Natriumcitrat-Konzentration von 3,8%. [25] Die Abbildung 12 veranschaulicht den Aufbau des PFA-100®.

Abbildung 12: Aufbau des PFA-100®



Ref: <https://thoracickey.com/shear-stress-based-platelet-function-tests/> (19.11.2021)

Aufgrund einer niedrigen Spezifität sollte auf PFA-100® als „allgemeine nicht selektierte Screeningmethode“ verzichtet werden. Das Screening mittels PFA-100® findet hauptsächlich beim Vorliegen von klinischen Hinweisen auf eine Störung der primären Hämostase Verwendung, insbesondere beim vWS. [22], [26] PFA-100® dient als Unterstützung um Thrombozytenfunktionsstörungen ausfindig zu machen und nicht zur alleinigen Diagnosesicherung. Die Interpretation erfolgt auf Basis der Anamnese, des klinischen Erscheinungsbildes und weiterführenden Labortests. [25]

PFA-100® lässt sich beeinflussen durch:

Hämatokrit

Bei einem Hämatokrit unter 25% verlängert sich die Verschlusszeit, unter 10% ist die Verschlusszeit nicht mehr messbar. Dies lässt sich in der Klinik bei anämischen PatientInnen beobachten, bei denen die reduzierte Anzahl an Erythrozyten die Thrombozytenfunktion beeinträchtigen. [27]

Thrombozytenzahl

Die Verschlusszeit und die Thrombozytenzahl verhalten sich beinahe linear. Eine verringerte Thrombozytenzahl von unter $50 \times 10^9/L$ verlängert die Verschlusszeit, eine Anzahl unter $10 \times 10^9/L$ führt zu keiner Verschlusszeit mehr, während eine Thrombozytenzahl von über $50 \times 10^9/L$ normale Werte liefert. [27] Bei einer Verkleinerung der Öffnungen in der Membran kann dieser Störfaktor bei niedriger Thrombozytenzahl umgangen werden, jedoch kommt diese Modifikation in der Routine nicht vor. [27]

Blutgruppe

PatientInnen mit der Blutgruppe 0 besitzen weniger vWF im Vergleich zu anderen Blutgruppen. Die Blutgruppe 0 führt zur verlängerten Verschlusszeit, wobei dieser Unterschied nicht signifikant ist. [27]

Alter und Geschlecht

Die Verschlusszeit ist zwar unabhängig vom Geschlecht, jedoch ist das Alter ein Einflussfaktor: Ältere PatientInnen weisen kürzere Verschlusszeiten auf.[27] Außerdem besitzen Neugeborene, aufgrund ihrer physiologisch vermehrten Anzahl an vWF, Multimeren und den höheren Hämatokritwerten, eine verkürzte Verschlusszeit. Ältere Kinder weisen wiederum eine annähernd gleiche VT wie Erwachsene auf. [27]

Zeit

Am Morgen treten Myokardinfarkte häufiger auf als über den restlichen Tag, diese Zeitabhängigkeit wird auch bei PFA-100[®] beobachtet [27]: Messungen am Morgen weisen eine verkürzte VT auf und sollten, um vergleichbare Werte zu erzielen, zur selben Uhrzeit stattfinden. Auch die Zeitspanne von der Blutabnahme bis zur Testung sollte nicht länger als fünf Stunden betragen. [27]

Außerdem beeinflussen Arzneimittelwirkungen und Diäten die Aussagekraft des PFA-100[®]. Die Verschlusszeit mit den Agonisten EPI wird zusätzlich durch hohe vWF-, Fibrinogen- oder Erythrozytenwerte verkürzt. [22], [26]

Dennoch zeichnet sich der PFA-100[®] durch einen hohen negativen prädiktiven Wert aus: Eine normal ermittelte Verschlusszeit mittels PFA-100[®] schließt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit das von Willebrand Syndrom und schwere Thrombozytopathien aus. [22], [26]

Die **Aufdeckungsrate von hereditären Thrombozytopathien** bei PFA-100[®] äußert sich wie folgt:

PFA-100[®] weist beim angeborenen vWS eine genauso hohe Sensitivität wie die LTA auf. [27] Während PFA-100[®] sensitive Ergebnisse beim Bernard-Soulier Syndrom und der Thrombasthenie Glanzmann aufweist, besitzt ein kongenitales Fehlen von zirkulierendem Fibrinogen keinen Einfluss auf die Verschlusszeit. Weiters können milde Defekte die Verschlusszeit unbeeinträchtigt lassen. [27]

Der δ -Storage-Pool Defekt (SPD) präsentiert sich wie bei einer ASS Einnahme mit einer normalen Verschlusszeit (VT) bei ADP, jedoch mit einer verlängerten VT bei EPI. Bei SPD wird weniger ADP freigesetzt, da jedoch das ADP beim PFA-100[®] in physiologischer Menge zur Verfügung gestellt wird, fällt die VT dementsprechend normal aus. [27]

Unterschiedliche Studien liefern unterschiedliche Ergebnisse über die Aufdeckungsrate von PFA-100[®] bei vWS: Die Sensitivität ist abhängig von der Schwere des vWS, der GPIIb/IIIa-Rezeptor-Dichte und von grenzwertigen vWF-Konzentrationen. So dient PFA-100[®] als nützliches Screeningtool für vWS, jedoch nicht zur Abschätzung der Schwere bzw. Einteilung des jeweiligen Subtyps. [27]

PFA-100[®] als **Drug Monitoring** bei Thrombozytenaggregationshemmern:

ASS

Das am meisten verwendete Medikament, das die Thrombozytenfunktion beeinträchtigt, ist ASS. PFA-100[®] weist hierbei eine Sensitivität von etwa 95% auf, jedoch mit einer normalen VT für ADP bei verlängerten VT für EPI. [27] Einige PatientInnen weisen keine verlängerte VT für beide Agonisten trotz ASS Einnahme auf. Ursachen dafür können unter anderem eine „Aspirinresistenz“, eine zu niedrige ASS-Dosis oder eine unterschiedliche Konzentration an Natriumcitrat sein. [27]

GPIIb/IIIa-Rezeptor-Antagonisten

PFA-100® ist gegenüber GPIIb/IIIa-Rezeptor Antagonisten sensitiv. Die Einnahme von Abciximab führt bei PFA-100® zu einer VT von >300 Sekunden und ist somit genauso nützlich wie die LTA bei dieser Medikamentengruppe. [28]

NSAR

Jedes NSAR wirkt sich unterschiedlich auf die VT aus: Indomethacin weist wie ASS nur eine verlängerte VT für EPI auf, während Diclofenac trotz der Hemmung der Thrombozytenaggregation zu keiner verlängerten VT führt. [27] Auch bei Clopidogrel führt PFA-100® zu keiner verlängerten VT. Nur in kombinierter Einnahme von Clopidogrel mit ASS kommt es zu einer verlängerten VT für EPI. [28]

1.3.4 Multiplate®

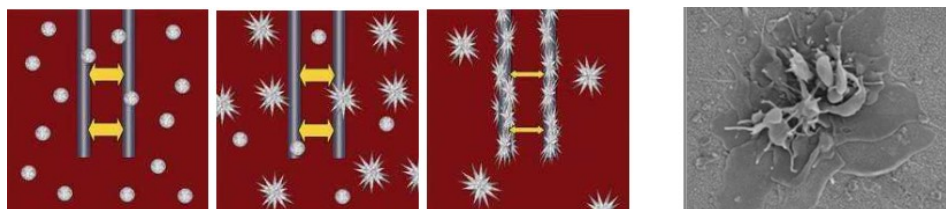
Multiplate® electrode aggregometry arbeitet mit Hilfe der Impedanzaggregometrie mit nur einer geringen Menge an antikoaguliertem Vollblut. Es ermöglicht eine Thrombozytenfunktionsbestimmung ohne einer weiteren Verarbeitung der Probe, d.h. es erfolgt keine weitere Verarbeitung zu einem PRP. [22]

Diese Methode arbeitet in erster Linie mit Vollblut, es kann aber auch eine vorbearbeitete Probe wie PRP verwendet werden. [29] Das Vollblut wird mittels Hirudin antikoaguliert, da bei einer Antikoagulation mit Citrat der Probe zu viel freies Kalzium entzogen würde, was die Testung wesentlich beeinflusst. Kalzium dient als „second messenger“ und würde beim Fehlen zur Hemmung der Thrombozytenfunktion führen. [30] Daher sollte bei Verwendung von Citratplasma vor der Messung das Kalzium resubstituiert werden. Die Blutprobe befindet sich in einer Küvette in einem 50:50 Verhältnis mit einem physiologischen Puffer (z.B. einer phosphatgepufferten Salzlösung), um das Vollblut für die Impedanzaggregometrie zu verdünnen. [29]

In dieser Küvette wird ein Elektronenpaar angebracht, durch das Wechselstrom fließt, damit die Elektroden ihre Nettoladung erhalten. Die Thrombozyten besitzen eine negativ geladene Oberfläche und bilden einen Monolayer an den positiven Elektroden (vgl. Abbildung 13). [29]

Das Vollblut wird bei 37 Grad mittels Magneten verrührt, während die Thrombozyten durch Beigabe der Agonisten zur Aktivierung und Aggregation gebracht werden. [31] Mithilfe des Wechselstroms wandern die Thrombozyten zu beiden Elektroden, während sie bei Gleichstrom nur zu einer der beiden Elektroden fließen würden. Dadurch erhält diese Methode auch ihren Namen als Impedanz (=Wechselstromwiderstand) Aggregometrie. [29] Im Gegensatz zu PFA-100® unterliegen die Thrombozyten bei Multiplate® niedrigeren Scherkräften. [30]

Abbildung 13: Schematische Darstellung von Multiplate®

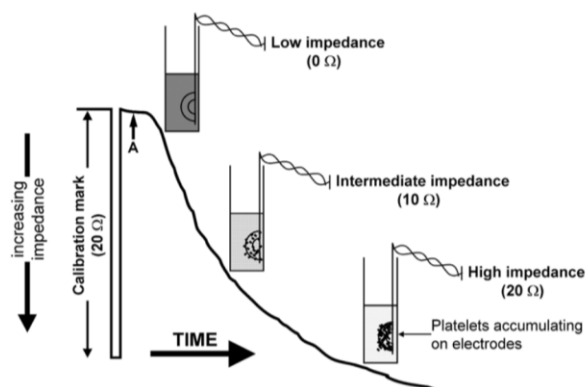


Ref: <https://docplayer.net/170053-Platelet-function-analysis-using-multiple-electrode-aggregometry-multiplate.html> (19.11.2019)

Der Spalt zwischen den Elektroden zählt zum elektronischen Schaltkreis, dort befindet sich der Ort des größten Widerstands. Dieser Widerstand erhöht sich bei der Aktivierung und der darauffolgenden Aggregation der Thrombozyten. [29]

Multiplate® misst die Thrombozytenaggregation über den elektrischen Wechselstromwiderstand innerhalb des Stromkreises (vgl. Abbildung 14). [29] Die Aggregationsergebnisse werden als Fläche unter der Aggregationskurve über die Zeit berechnet (aufgezeichnet in Einheiten; U). [22]

Abbildung 14: Zunahme der Impedanz über die Zeit



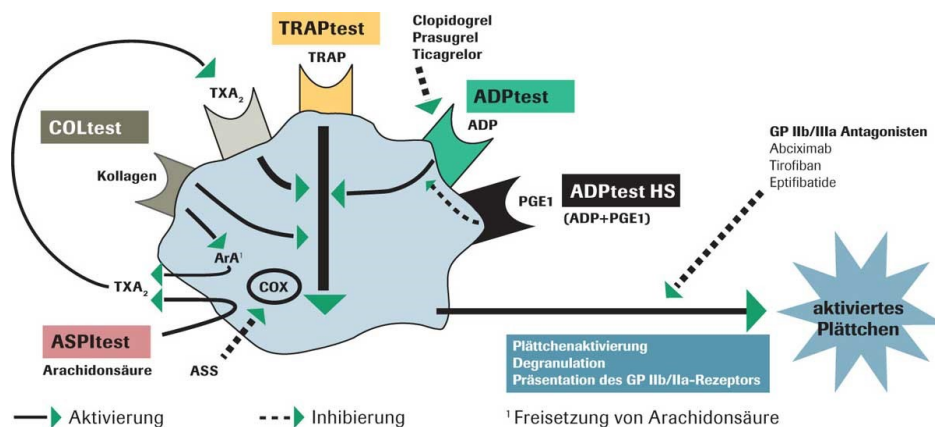
Ref: J. Gibbins und M. Mahaut-Smith, Platelets and megakaryocytes. Volume 1: Functional assays (Methods in molecular biology, Vol. 272), New Jersey: Humana Press, 2004, p. 79.

Bestandteile des Blutes wirken sich auf die Thrombozytenfunktion aus, die durch die Vollblutaggregometrie miterfasst wird und sich somit physiologischen Bedingungen annähert. Multiplate® verfügt über fünf Kanäle mit gebrauchsfertigen Einwegküvetten, zwei Sensoreinheiten und einer automatisierten Pipette. [32]

Multiplate® hat ein Spektrum von neun Reagenzien und lässt Thrombozyten auf ihre verschiedenen physiologischen Weisen aktivieren (vgl. Abbildung 15). [32]

- ADPtest
- ADPtest HS
- ASPItest,
- TRAPtest
- RISTOtest
- COLtest
- Prostaglandin E1 Reagent
- ASA Reagent
- GPIIb/IIIa Antagonist Reagent.

Abbildung 15: Reagenzien von Multiplate®



Ref: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/multiplate-6-analyzer.html>
(19.11.2019)

Der ADPtest bestimmt, wie viele Thrombozyten sich über ihren ADP-Rezeptor aktivieren lassen. Dieser Rezeptor lässt sich durch ADP-Antagonisten (Clopidogrel, Prasugrel und Ticagrelor) blockieren. Die Sensitivität gegenüber Clopidogrel verstärkt sich durch die Hinzugabe von Prostaglandin E1, was unter dem ADPtest HS erfolgt. Prostaglandin E1 selbst wird durch das Prostaglandin E1 Reagent bestimmt. [32]

Der ASPItest bestimmt quantitativ die durch Arachidonsäure aktivierten Thrombozyten, der COLtest die durch Kollagen. Kollagen setzt Arachidonsäure frei, die zusammen mit Cyclooxygenase das TXA₂ synthetisiert, welche aber durch die COX-Hemmer ASS und NSAR blockiert werden. [32]

Der Thrombin-Rezeptor auf den Thrombozyten kann durch thrombin receptor activating peptide (TRAP) aktiviert werden und lässt sich mittels TRAPtest quantifizieren. Dadurch, dass sich der Thrombin-Rezeptor mit TRAP aktivieren lässt, können auch Patienten und Patientinnen unter GPIIb/IIIa-Antagonisten wie Abciximab und Tirofiban getestet werden. [32]

Der RISTOtest verwendet Ristocetin zur quantitativen Beurteilung von vWF und GPIb. ASA Reagent führt zur verminderten Aggregationsantwort beim ASPItest und COLtest. Das GPIIb/IIIa-Antagonist-Reagent führt zur verminderten Aggregationsantwort beim TRAPtest. Beide dienen als Kontrolllösung für den Thrombozytenfunktionstest. [32]

Die Impedanz lässt sich beeinflussen durch folgende Punkte:

Elektroden

Je weiter die Elektroden voneinander positioniert werden, desto höher ist die Impedanz. Um Schäden an den Elektroden zu vermeiden, welche die Impedanzmessungen verfälschen können, müssen sie mit großer Sorgfalt behandelt werden. [29]

Temperatur

Je höher die Temperatur, desto höher ist die Fließgeschwindigkeit des elektrischen Stroms. [29]

Zell- und Elektrolytzusammensetzung

Unterschiedliche Hämatokritwerte lassen die Ergebnisse der Impedanzaggregometrie unberührt, während Agonisten mit einer anderen Elektrolytzusammensetzung als der Probe selbst zu Artefakten führen. [29]

Fremdkörper

Fremdkörper zwischen den Elektroden stören die Thrombozytenfunktion und folglich die Impedanzmessung. [29]

Rühren

Um eine effiziente Thrombozytenaggregation in der Suspension zu erhalten, ist eine Durchmischung mittels gleichmäßiger Bewegung notwendig, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. [29]

Im Folgenden werden Maßnahmen aufgezeigt, um die zuvor erwähnten Einflussfaktoren zu minimieren:

Standardisierung

Aus der Studie von Seyfert et al. geht hervor, dass die Messungen mittels Multiplate® weitgehendst standardisiert sind, weshalb die oben erwähnten Einflussfaktoren keine wesentliche Rolle mehr spielt. [33] Die Positionen von den Elektroden, die Durchmischung und mögliche Fremdkörper sind durch die Verwendung von Einwegmesszellen und fest platzierten Metallelektroden zu unabhängigen Faktoren für die Messungen geworden. [33]

Auch die Temperatur und die Elektrolytzusammensetzung werden bereits vorab vom Hersteller von Multiplate® fest vorgegeben. Jedoch zeigt die Studie, dass die Thrombozytenzahl einen Einfluss auf den ADPtest und den COLtest besitzt. [33]

Da die Aufdeckungsrate von Multiplate® - vor allem in der Pädiatrie - noch wenig beschrieben ist, beschäftigt sich die Studie mit diesem Thema und zieht zusätzlich PFA-100® zum Vergleich her.

2 Material und Methoden

Wie der Einleitung zu entnehmen ist, deckt Multiplate® ein breites Fach an Diagnostik und Monitoring ab, jedoch gibt es wenig belegte Studien über seine Aufdeckungsrate. Zusätzlich beschäftigen sich nur wenige Studien über die Referenzbereiche von Multiplate® speziell in der Pädiatrie. Diese Studien werden im Anschluss im Kapitel 4 diskutiert.

Daraus ergibt sich in dieser Arbeit die Forschungsfrage, ob Multiplate® als präoperatives Screeningtool besser geeignet ist als das etablierte PFA-100®. Die Studie stellte vorab die Hypothese auf, dass Multiplate® eine höhere Aufdeckungsrate aufweist als PFA-100®. Zusätzlich schafft die Studie einen Informationsgewinn Rund um das Thema „Multiplate® in der Pädiatrie“.

2.1 Studiendesign

Bei der Diplomarbeit handelt es sich um eine retrospektive Studie, in welcher Daten aus dem Zeitraum von Oktober 2011 bis Januar 2015 ausgewertet wurden. Die Messwerte von Multiplate® befinden sich in ausgedruckter Form in einer Mappe an der Grazer Kinderklinik, die Messwerte von PFA-100® werden über das krankenhausinterne System „OpenMedocs“ erhoben.

Über OpenMedocs wurden zusätzliche Informationen erhoben:

1. Geburtsdatum
2. Operationsindikation
3. Komplikationen während der Operation aus dem OP-Bericht
4. Postoperative Komplikationen aus dem Arztbrief oder bei Wiedervorstellung in der Ambulanz
5. Blutungsanamnese
6. Thrombozytenzahl

2.2 Studienpopulation

Die Studienpopulation setzt sich aus 64 Kindern beider Geschlechter zusammen, die an der Grazer Kinderklinik zum präoperativen Screening angemeldet waren. Die Studie beinhaltet Kinder von 0 – 18 Jahren, die vor einer Operation oder einem invasiven Eingriff standen.

Folglich wurden vorab zwei Probanden von der Auswertung ausgeschlossen, da sie das 18. Lebensjahr (Lj.) zum Zeitpunkt der Messung bereits überschritten hatten. Eingeschlossen wurden auch Kinder, bei denen Werte von nur einen der beiden Messmethoden vorhanden waren. Die Auswertung der Studie erfolgte schließlich mit 64 Kindern, wobei 30 weiblich und 34 männlich waren.

Kinder, bei denen eine mehrmalige Messung mittels Multiplate® durchgeführt wurde, zog man die wiederholten Messwerte heran. Die neue Messung erfolgte am selben Tag wie die der ersten Messung.

2.3 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Daten erfolgte über die Erstellung eines Registers in Excel mit allen erhobenen Daten und der Weiterverarbeitung in SPSS 26. Die Namen der Kinder wurden pseudoanonymisiert und mit Sorgfalt behandelt. Die Errechnung des Alters erfolgte am Tag der Testung und wurde auf volle Lebensjahre abgerundet.

Die Auswertung erfolgte anfangs über die deskriptive Statistik, um einen Überblick über die Studienpopulation und die Messwerte von Multiplate® und PFA-100® zu schaffen. Daran angeschlossen erfolgte die Ermittlung der Aufdeckungsrate und Gegenüberstellung der beiden Messmethoden.

Die Hypothese ist, dass Multiplate® eine höhere Aufdeckungsrate besitzt als PFA-100®. Die Bestimmung der Referenzbereiche von Multiplate® entstammen aus den hauseigenen Referenzbereichen der Grazer Kinderklinik.

Die Referenzbereiche werden im Kapitel 4 mit anderen Studien verglichen, unter anderem mit der Studie von Peerschke und der Studie von Halimeh. [34], [35] Dadurch, dass die Studie von Halimeh die Kinder in Altersklassen einteilt, die Referenzbereiche der Grazer Kinderklinik dies jedoch nicht berücksichtigen, werden im Kapitel 3.2 die Messwerte von Multiplate® einer einfaktoriellem Varianzanalyse unterzogen. Damit lässt sich feststellen, ob eine Zuordnung in Altersklassen für diese Studie von Nöten ist. Die Altersklassen gliedern sich wie folgt:

- Altersklasse 1: 0. – 1. Lebensjahr
- Altersklasse 2: 2. – 4. Lebensjahr
- Altersklasse 3: 5. – 9. Lebensjahr
- Altersklasse 4: 10. – 18. Lebensjahr

Zur Beurteilung der Wertigkeit als präoperative Screeningmethode wurden die peri- und postoperativen Komplikationen zusammengefasst. Zeigte sich bei einem der Kinder peri- oder postoperative Komplikationen so wurde dies als stattgefunden Komplikation gezählt d.h. es erfolgte in der Auswertung keine Unterscheidung zwischen peri- oder postoperative Komplikation.

Messwerte von Multiplate® oder PFA-100® gelten als „pathologisch“, wenn einer ihrer Messwerte außerhalb des Wertebereichs liegt d.h. wenn auch nur einer der fünf Agonisten von Multiplate® außerhalb des Referenzbereichs ist, wird dieses Kind als „pathologisch“ gewertet.

Wie bereits erwähnt wird PFA-100® nicht als unselektierte Screeningmethode eingesetzt, weshalb die Blutungsanamnese zusätzlich herangezogen wird. Die Blutungsanamnese gilt als „positiv“, wenn die Eltern berichteten, dass ihr Kind z.B. zu Hämatomen neigt oder Verwandte 1. und 2. Grades Blutungsauffälligkeit zeigten (z.B. starke Menses). Zusätzlich erfolgte eine Korrelationsanalyse zwischen dem Auftreten von Komplikationen und der Blutungsanamnese sowie den Messergebnissen von Multiplate® bzw. PFA-100®. Da es sich um nicht-parametrische Daten handelt, erfolgt die Auswertung der Korrelation mittels Spearman-Test.

3 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Studie präsentiert. Zu Beginn wird die Zusammensetzung der Studienpopulation näher beschrieben. Anschließend wird der Frage nachgegangen, ob eine Einteilung der StudienteilnehmerInnen in Altersgruppen notwendig ist. Zum Schluss erfolgt die Gegenüberstellung von Multiplate® mit PFA-100®.

3.1 Deskriptive Auswertung der Studienpopulation

Mittels deskriptiver Statistik wird ein genauer Einblick in die Studienpopulation und den Daten allgemein erhalten.

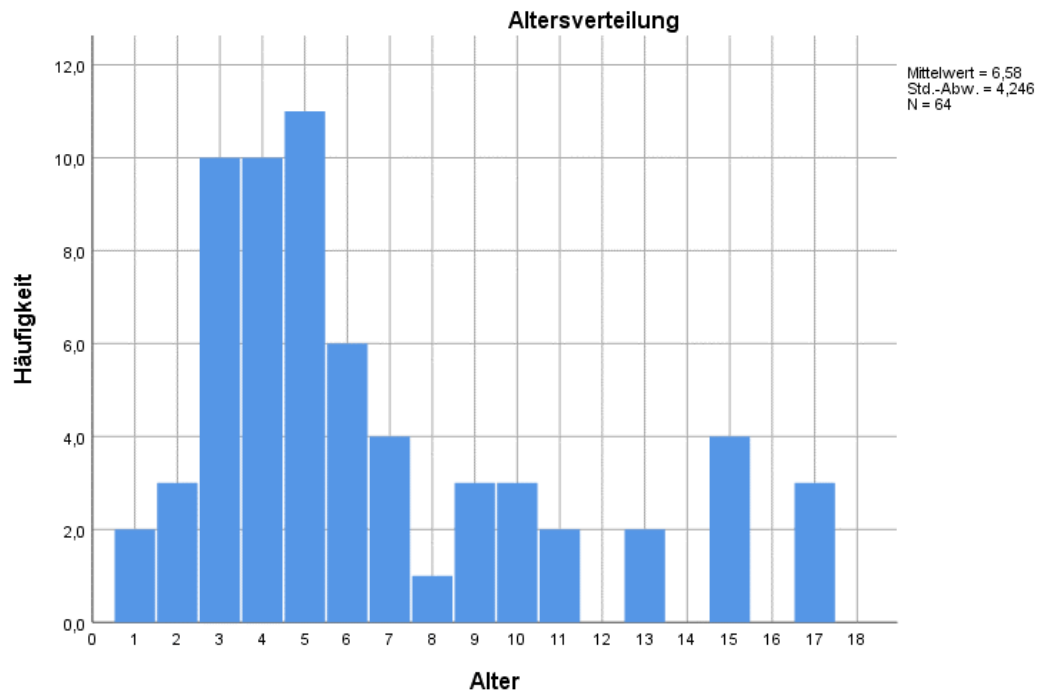
Die Studienpopulation setzt sich, wie in Tabelle 3 zu entnehmen, aus insgesamt 64 Kinder zusammen, darunter sind 30 (46,9%) weiblich und 34 (53,1%) männlich. Daraus ergibt sich eine Verteilung der Geschlechter von w:m = 0,88:1.

Die Abbildung 16 veranschaulicht eine rechtsschiefe Verteilung des Alters, außerdem erstreckt sich das Alter der in der Studie-befindlichen Kinder von 1-18 Jahre. In der Studie befinden sich 48,4% aller Kinder zwischen dem 3.-5. Lebensjahr (Lj.), darunter zehn im 3. Lj. (15,6%), zehn im 4. Lj. (15,6%) und elf im 5. Lj. (17,2%). Die restlichen 33 Kinder (51,5%) verteilen sich wie folgt auf: Im ersten, elften und 13. Lj. befinden sich jeweils zwei Kinder (3,1%), mit nur einem Kind ist das achte Lj. (1,6%) vertreten. Somit liegt der Mittelwert um das 6,58 Lj. und der Median um das fünfte Lj.

Tabelle 3: Geschlechterverteilung der Studienpopulation

	Geschlecht		
	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente
w	30	46,9	46,9
m	34	53,1	53,1
Gesamt	64	100,0	100,0

Abbildung 16: Balkendiagramm der Altersverteilung



Im Rahmen des präoperativen Screenings wurden die Kinder bzw. die Eltern auf eine Blutungsneigung anamnestisch überprüft. Eine Blutungsneigung gilt als „positiv“, wenn das Kind selbst oder Verwandten 1. und 2. Grades Auffälligkeiten aufwies.

Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich, besitzen 12 (18,7%) Kinder eine auffällige Blutungsanamnese, davon sind sieben (10,9%) Mädchen und fünf (7,8%) Jungen. Eine unauffällige Blutungsanamnese zeigten sich bei 52 (81,3%) Kindern, davon sind wiederum 23 (36,0%) Mädchen und 29 (45,3%) Jungen.

Tabelle 4: Häufigkeit der positiven Blutungsanamnese aufgeteilt in Geschlecht

		Positive Blutungsanamnese		
		Häufigkeit		Gesamt
Geschlecht		Nein	Ja	
		w	23	7
	m	29	5	34
Gesamt		52	12	64

Folgende Blutungsneigungen gaben die Kinder bzw. die Eltern an:

- Drei Kinder mit Hämatomneigung
- Zwei Kinder mit vermehrtem Nasebluten
- Zwei Kinder mit vWS (Typ 1)
- Dreimal Hämatomneigung 1. Verwandtschaftsgrades
- Einmal vermehrtes Nasenbluten 1. Verwandtschaftsgrades
- Einmal bekannte vWS 1. Verwandtschaftsgrades (unbekannter Typ)
- Viermal starke Menstruationsblutung 1. Verwandtschaftsgrades
- Einmal verlängerte postpartale Blutung 1. Verwandtschaftsgrades
- Zweimal Faktor X-Mangel 2. Verwandtschaftsgrades
- Einmal verstärkte Menstruationsblutung 2. Verwandtschaftsgrades

Darunter sind auch Kinder vertreten, auf die mehrere Auffälligkeiten zutreffen. Unter den positiven Blutungsanamnesen der Verwandten 1. und 2. Grades der Kinder sind jedoch auch Kinder vertreten, die selbst eine unauffällige Blutungsanamnese aufweisen. So sind drei Mütter mit einer starken Menstruationsblutung dabei. Deren Kinder zwei Mädchen im nicht gebärfähigen Alter und ein Junge sind, weshalb die Kinder selbst in Hinblick der Blutungsneigung unauffällig sein können. Unter diesen zwei Mädchen ist ein Mädchen dabei, das vermehrtes Nasenbluten angab. Ob auch sie zu einer starken Menstruationsblutung wie ihre Mutter neigt, kann nicht definitiv gesagt werden. Die Angaben zu bekannten vWS betreffen nicht dasselbe Kind.

Die häufigste Blutungsneigung, die die Kinder selbst betrifft, ist die Hämatomneigung. Die Hämatomneigung wurde sowohl von den Kindern als auch von den Verwandten 1. Grades dreimal angegeben. Darunter ist nur eine Mutter mit ihrem Kind dabei, die Beide zu Hämatomen neigen.

Das präoperative Screening wurde im Rahmen einer geplanten Operation durchgeführt. Die drei häufigsten Operationen waren die Adenektomie/ Adenotomie (+/- Parazentese) mit 27 Kinder, die Tonsillektomie/ Tonsillotomie mit 15 Kinder und die Zahnextraktion/ -sanierung mit zwölf Kinder. Darunter waren elf Kinder, die sowohl eine Adenektomie/ Adenotomie, als auch eine Tonsillektomie/ Tonsillotomie hatten. Unter den 64 Kinder sind vier Kinder dabei, die sich nicht operieren ließen.

Die peri- und postoperativen Komplikationen entstammen aus den OP-Berichten, Entlassungsbriefen und aus der Wiedervorstellung in der Ambulanz. Einige Komplikationen konnten nicht erfasst werden, da sich einige Kinder in privaten/ externen Krankenhäusern operieren ließen und somit keine Datenlage dazu verfügbar ist. Dies betrifft neun Kinder, worunter ein Kind sich doch in der Grazer Kinderklinik mit Nachblutungen wieder vorstellte. Wie bereits erwähnt, unterzogen sich vier Kinder zusätzlich keiner Operation. Bei 51 Kinder gibt es eine Angabe, ob eine perioperative Komplikation stattfand bzw. bei 52 Kinder eine Angabe ob postoperative Komplikationen stattfand. Die Anzahl der stattgefundenen Komplikationen lässt sich aus Tabelle 5 entnehmen. Von den 51 Kindern hatten 44 (86,3%) Kinder keine perioperativen Komplikationen, während sieben (13,7%) Kinder Komplikationen erlitten. Postoperative Komplikationen wiesen fünf (9,6%) Kinder auf, während 47 (90,4%) Kinder unauffällig blieben.

Tabelle 5: Häufigkeit der peri- und postoperativen Komplikationen

Peri- und postoperative Komplikationen			
		Häufigkeit (N)	Häufigkeit (%)
perioperative Komplikation	Nein	44	86,3%
	Ja	7	13,7%
	Gesamt	51	100,0%
postoperative Komplikationen	Nein	47	90,4%
	Ja	5	9,6%
	Gesamt	52	100,0%

Unter den perioperativen Komplikationen haben laut Tabelle 6 drei Kinder (5,9%) eine positive Blutungsanamnese, während trotz einer blanden Blutungsanamnese bei vier Kindern (7,8%) die Operation zu perioperativen Komplikationen führte. Keine perioperativen Komplikationen bei blander Blutungsanamnese treffen auf 39 Kinder (76,5%) zu, während fünf Kinder (9,8%) keine perioperativen Komplikationen bei positiver Blutungsanamnese aufweisen. Auch in der Gruppe der postoperativen Komplikationen haben drei Kinder (5,8%) eine positive Blutungsanamnese. Bei zwei Kindern (3,8%) traten trotz negativer Blutungsanamnese postoperative Komplikationen auf. 47 Kinder (90,3%) wiesen keine postoperativen Komplikationen auf, darunter 41 Kinder (78,8%) mit einer leeren und sechs Kinder (11,5%) mit einer positiven Blutungsanamnese.

Tabelle 6: Häufigkeit der peri- und postoperativen Komplikationen gruppiert in Blutungsanamnese

Häufigkeit der peri- und postoperativen Komplikationen gruppiert nach positiver Blutungsanamnese					
		Positive Blutungsanamnese			
		Nein		Ja	
		Anzahl	Anzahl als %	Anzahl	Anzahl als %
perioperative Komplikation	Nein	39	76,5%	5	9,8%
	Ja	4	7,8%	3	5,9%
postoperative Komplikationen	Nein	41	78,8%	6	11,5%
	Ja	2	3,8%	3	5,8%

3.2 Überprüfung der Notwendigkeit von Altersklassen

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, gibt es Differenzen bei der primären Hämostase in verschiedenen Lebensabschnitten (Kapitel 1.1.4). Somit wäre eine Einteilung in Altersklassen zu erwägen, zudem werden die Kinder in der Studie von Halimeh ebenso in Altersklassen eingeteilt. [34] Da diese Studie nicht viele Kinder umfasst, ist eine Überprüfung zur Notwendigkeit der Einteilung in Gruppen indiziert. Diese Überprüfung erfolgt mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse. Die Gruppeneinteilung orientiert sich an der Studie von Halimeh.

Die Altersklassen sind in der Tabelle 7 gelistet, diese umfassen jeweils in der:

- Altersklasse 1 (0-1 Jahre) zwei Kinder
- Altersklasse 2 (2-4 Jahre) 23 Kinder
- Altersklasse 3 (5-9 Jahre) 25 Kinder
- Altersklasse 4 (10-18 Jahre) 14 Kinder.

Dies ergibt eine ungleiche Verteilung der Kinder zu den Altersklassen. So befinden sich die wenigsten Kinder in der Altersklasse 1 mit 3,1% und die meisten Kinder in der Altersklasse 3 mit 39,1%.

Tabelle 7: Anzahl der Kinder in den jeweiligen Altersklassen

Anzahl der Kinder in den jeweiligen Altersklassen					
		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	0-1 Jahre	2	3,1	3,1	3,1
	2 - 4 Jahre	23	35,9	35,9	39,1
	5 - 9 Jahre	25	39,1	39,1	78,1
	10 - 18 Jahre	14	21,9	21,9	100,0
	Gesamt	64	100,0	100,0	

Aus der Varianzanalyse der Tabelle 8 ist ersichtlich, dass der ADPtest, ASPIttest, RISTOtest und TRAPtest keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Messergebnissen und der Altersklassen erbringt. Der COLtest zeigt als einziges einen Zusammenhang zwischen seinen Messergebnissen zu den jeweiligen Altersklassen mit einer Signifikanz von 0,031.

Da die Gruppen ungleich verteilt sind, lässt sich kein optimaler Rückschluss auf einen Zusammenhang zwischen Messergebnissen und Altersklassen ziehen. Daher wird auf die Einteilung von Altersklassen verzichtet. Die Altersklassen werden im Kapitel 4 diskutiert.

Tabelle 8: Einfaktorielle Varianzanalyse

Einfaktorielle Varianzanalyse						
		Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
ADPtest	Zwischen den Gruppen	21,516	3	7,172	,017	,997
	Innerhalb der Gruppen	25503,343	60	425,056		
	Gesamt	25524,859	63			
ASPItest	Zwischen den Gruppen	934,714	3	311,571	,692	,561
	Innerhalb der Gruppen	27030,770	60	450,513		
	Gesamt	27965,484	63			
COLtest	Zwischen den Gruppen	3054,437	3	1018,146	3,157	,031
	Innerhalb der Gruppen	19348,000	60	322,467		
	Gesamt	22402,438	63			
RISTOtest	Zwischen den Gruppen	2088,301	3	696,100	,555	,647
	Innerhalb der Gruppen	75304,558	60	1255,076		
	Gesamt	77392,859	63			
TRAPtest	Zwischen den Gruppen	1386,623	3	462,208	1,265	,294
	Innerhalb der Gruppen	21915,986	60	365,266		
	Gesamt	23302,609	63			

3.3 Statistische Auswertung der Multiplate® Ergebnisse

Es stehen 64 Kinder mit Multiplate® Messwerten und 61 Kinder mit PFA-100® Messwerten für die Studie zur Verfügung (Tabelle 9). Drei Kinder haben somit keine Messergebnisse mittels PFA-100®. Die weiteren Ergebnisse von Multiplate® und PFA-100® werden gesondert im nächsten Kapitel erläutert.

Tabelle 9: Anzahl der erhobenen Messwerte von Multiplate® und PFA-100®

		Anzahl der erhobenen Messwerte von Multiplate® und PFA-100®	
		Multiplate®	PFA-100®
Anzahl	Gültig	64	61
	Fehlend	0	3

3.3.1 Explorative Datenanalyse der Multiplate® Ergebnisse

In der Studie werden folgende Agonisten für die Multiplate® Auswertung herangezogen: ADP, ASPI, COL, RISTO und TRAP. Wie in Tabelle 10 ersichtlich, besitzen alle 64 Kinder Messergebnisse mit diesen Agonisten. Ihre Messergebnisse beziehen sich auf die Area under the curve (AUC), die in „U“ Unit angegeben wird, ihre Bedeutung ist auf S. 35 zu entnehmen.

Tabelle 10: Lagemaßen und Streuung der Messwerte von Multiplate®

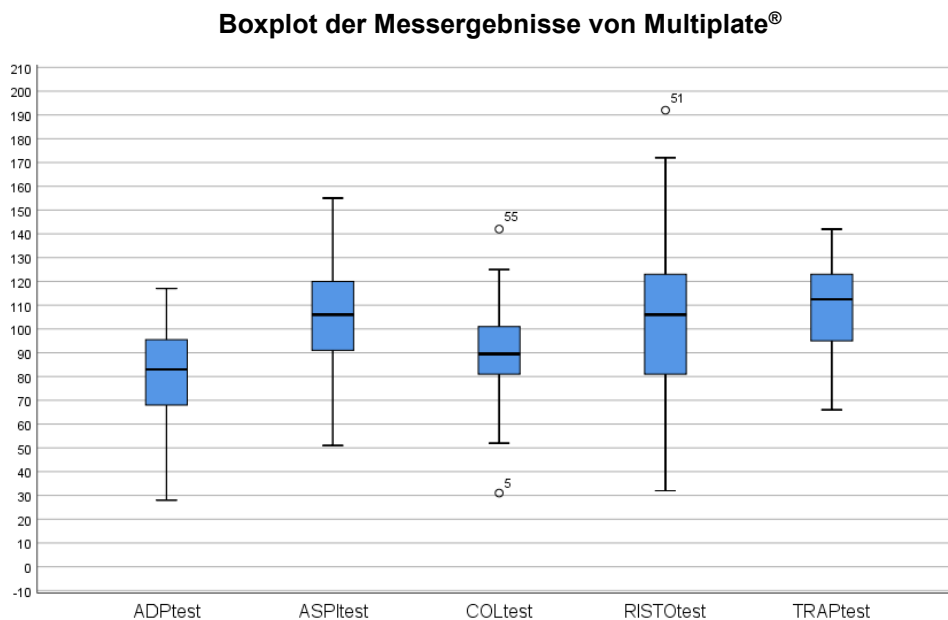
		Lagemaß und Streuung der Messwerte von Multiplate®				
		ADP (U)	ASPI (U)	COL (U)	RISTO (U)	TRAP (U)
N	Gültig	64	64	64	64	64
	Fehlend	0	0	0	0	0
Mittelwert		80,95	103,23	89,16	103,05	109,08
Median		83,00	106,00	89,50	106,00	112,50
Spannweite		89	104	111	160	76
Minimum		28	51	31	32	66
Maximum		117	155	142	192	142
Perzentile	10	51,50	76,00	66,50	50,00	79,50
	25	67,00	91,00	81,00	80,50	95,00
	50	83,00	106,00	89,50	106,00	112,50
	75	95,75	120,50	101,00	123,50	123,00
	90	108,00	126,00	110,50	143,50	133,50

Die Normbereiche für die jeweiligen Agonisten sind aus dem krankenhausinternen Referenzbereich entnommen worden. Diese sind wie folgt:

- ADPtest: 53-122 U
- ASPIttest: 75-136 U
- COLtest: 46-117 U
- RISTOtest (high): 90-201 U
- TRAPtest: 94-156 U.

Die Abbildung 17 stellt die Messergebnisse von Multiplate® als Boxplot dar. So befinden sich die Interquartilsabstände der gemessenen Werte des ADPtests, ASPIttests, und COLtests innerhalb des hauseigenen Referenzbereichs. Der Interquartilsabstand des TRAPtests beginnt bei 95 U und ist somit knapp außerhalb des Referenzbereichs, wohingegen der RISTOtest deutlich außerhalb liegt. Dies ermöglicht einen frühen groben Überblick, ob die Messwerte im Normbereich liegen und welche Agonisten die meisten pathologischen Ergebnisse liefern.

Abbildung 17: Boxplot der Messergebnisse von Multiplate®



Die Tabelle 11 zeigt die Anzahl der Kinder, die mit ihren Ergebnissen im oder außerhalb des Normbereichs liegen. So befinden sich sechs Kinder (9,4%) im ADPtest außerhalb des Normbereichs. Nicht im Normbereich sind weiters sechs Kinder (9,4%) im ASPIttest, vier Kinder (6,3%) im COLtest, 21 Kinder (32,8%) im RISTOtest und 15 Kinder (23,4%) im TRAPtest.

Tabelle 11: Anzahl der auffälligen Multiplate® Messergebnisse

Anzahl der auffälligen Multiplate® Messergebnisse			
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
ADPtest in der Norm?	Nein	6	9,4%
	Ja	58	90,6%
	Gesamt	64	100,0%
ASPItest in der Norm?	Nein	6	9,4%
	Ja	58	90,6%
	Gesamt	64	100,0%
COLtest in der Norm?	Nein	4	6,3%
	Ja	60	93,8%
	Gesamt	64	100,0%
RISTOtest in der Norm?	Nein	21	32,8%
	Ja	43	67,2%
	Gesamt	64	100,0%
TRAPtest in der Norm?	Nein	15	23,4%
	Ja	49	76,6%
	Gesamt	64	100,0%

Die Tabelle 12 vergleicht nochmal die Anzahl der im Normbereich befindlichen Kinder, jedoch werden alle Kinder herausgenommen, die sich vorab bei allen Agonisten im Normbereich befinden. Daraus ergeben sich insgesamt 29 (45,3%) Kinder, die in mindestens einem der Agonisten außerhalb der Norm befinden. Aus der Tabelle 12 geht hervor, dass diese 29 Kinder vor allem im RISTOtest (72,4%) und im TRAPtest (51,7%) außerhalb des Normbereichs liegen. Frühe Hinweise darauf lassen sich aus der Abbildung 17 zeigen.

Es gibt nur ein einziges Kind, das sich in allen der getesteten Agonisten außerhalb des Normbereichs befindet. Dieses Kind zeigt zudem eine positive Blutungsanamnese mit einer bekannten Thrombozytopenie, jedoch keiner peri- oder postoperativen Komplikation. Dabei ist zu erwähnen, dass dieses Kind als invasiven Eingriff eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie hatte, die normalerweise nicht blutet.

Wie bereits in den Kapiteln 1.3.3 und 1.3.4 erwähnt, beeinflusst die Thrombozytenzahl die Messergebnisse von Multiplate® und PFA-100®. In der Studie befinden sich zwei Kinder mit einer **Thrombozytopenie**, davon besitzt ein Kind zusätzlich pathologische Werte bei beiden Messmethoden, während das andere Kind nur bei Multiplate® Auffälligkeiten zeigt.

Tabelle 12: Anzahl der Multiplate® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich

Anzahl der Multiplate® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich			
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
ADPtest in der Norm?	Nein	6	20,7%
	Ja	23	79,3%
	Gesamt	29	100,0%
ASPItest in der Norm?	Nein	6	20,7%
	Ja	23	79,3%
	Gesamt	29	100,0%
COLtest in der Norm?	Nein	4	13,8%
	Ja	25	86,2%
	Gesamt	29	100,0%
RISTOtest in der Norm?	Nein	21	72,4%
	Ja	8	27,6%
	Gesamt	29	100,0%
TRAPtest in der Norm?	Nein	15	51,7%
	Ja	14	48,3%
	Gesamt	29	100,0%

3.3.2 Berechnung der Sensitivität und Spezifität der Multiplate® Werte

Die Tabelle 13 veranschaulicht, ob sich die Messwerte der jeweiligen Agonisten, einerseits im Normbereich befinden und andererseits, ob sie dazu peri- oder postoperative Komplikationen aufweisen. Wie bereits in Tabelle 5 erwähnt, weisen sieben Kinder perioperative und fünf Kinder postoperative Komplikationen auf.

Als Beispiel: Zieht man den ADPtest heran, so haben 41 Kinder Messwerte im Normbereich und erlitten keine perioperativen Komplikationen. Hingegen weisen sechs Kinder bei diesem Test Normwerte auf und hatten dennoch Komplikationen. Drei Kinder haben einen auffälligen ADPtest und trugen keine perioperativen Komplikationen davon. Ein Kind hingegen hat einen auffälligen ADPtest und perioperative Komplikationen. Das ergibt bei den perioperativen Komplikationen eine Sensitivität von 14,3% und eine Spezifität von 93,2%. Der ASPItest liefert ähnliche Ergebnisse wie der ADPtest.

Hierzu sei vor allem der COLtest zu erwähnen, der den genauesten Parameter für die peri- und postoperativen Komplikationswahrscheinlichkeiten darstellt. 42 Kinder haben keine perioperativen bzw. 46 Kinder keine postoperativen Komplikationen bei einem unauffälligen COLtest. Auch in Hinblick auf einen auffälligen COLtest treten nur bei einem Kind perioperative und bei zwei Kinder postoperative Komplikationen auf. Unter allen Agonisten zeigt der COLtest, die am wenigsten betroffenen Kindern mit einer postoperativen Komplikation, trotz eines unauffälligen Ergebnisses auf. Das ergibt bei den perioperativen Komplikationen eine Sensitivität von 14,3% mit einer Spezifität von 95,5%. Bei den postoperativen Komplikationen liegt die Sensitivität bei 40,0% mit einer Spezifität von 97,9%.

Der RISTOtest und der TRAPtest weisen eine größere Anzahl an falsch-positiv Ergebnissen auf. Diese beiden Agonisten zeigen auch in den vorherig erwähnten Ergebnissen Auffälligkeiten.

Tabelle 13: Anzahl der aufgetretenen Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von Multiplate®

		Anzahl der Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von Multiplate®							
		perioperative Komplikation				postoperative Komplikation			
		Nein		Ja		Nein		Ja	
ADPtest in der Norm?	Nein	3	5,9%	1	2,0%	4	7,7%	0	0,0%
	Ja	41	80,4%	6	11,8%	43	82,7%	5	9,6%
ASPItest in der Norm?	Nein	4	7,8%	0	0,0%	4	7,7%	0	0,0%
	Ja	40	78,4%	7	13,7%	43	82,7%	5	9,6%
COLtest in der Norm?	Nein	2	3,9%	1	2,0%	1	1,9%	2	3,8%
	Ja	42	82,4%	6	11,8%	46	88,5%	3	5,8%
RISTOtest in der Norm?	Nein	15	29,4%	2	3,9%	16	30,8%	1	1,9%
	Ja	29	56,9%	5	9,8%	31	59,6%	4	7,7%
TRAPtest in der Norm?	Nein	12	23,5%	1	2,0%	13	25,0%	0	0,0%
	Ja	32	62,7%	6	11,8%	34	65,4%	5	9,6%

3.3.3 Korrelationsanalyse mit den Agonisten von Multiplate®

In der Tabelle 14 werden die Parameter: Blutungsanamnese, Komplikationen (gesamt) und die einzelnen Agonisten von Multiplate® einer Korrelationsanalyse von Spearman unterzogen. Der Parameter „Komplikationen gesamt“ beinhaltet sowohl peri- als auch postoperative Komplikationen und gilt als „positiv“, wenn ein Kind von mindestens einer der beiden Komplikationen betroffen ist. Die Komplikationen werden hierbei zusammengefasst, um sie dann später mit PFA-100® zu vergleichen.

Wie bereits in der vorherigen Analyse (siehe Tabelle 13) liefert der COLtest die genauesten Ergebnisse. Dies spiegelt sich ebenso in der Korrelationsanalyse wider, in der sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen dem COLtest mit der Blutungsanamnese und den Komplikationen (gesamt) finden lässt. Diese besteht zwischen COLtest und Blutungsanamnese mit einer hohen Signifikanz von 0,00 und zu den Komplikationen (gesamt) mit einer Signifikanz von 0,048.

Der RISTOtest zeigt eine Korrelation zu dem ADPtest und dem TRAPtest mit einer hohen Signifikanz auf ($P < 0,01$). Der TRAPtest weist ebenso eine Korrelation zu dem ADPtest, dem ASPItest und dem RISTOtest mit einer hohen Signifikanz auf ($P < 0,01$).

Obwohl der RISTOtest und der TRAPtest bei vielen Kindern Auffälligkeiten zeigen, herrscht dennoch eine Korrelation zu den anderen Agonisten. Dies lässt zusammen mit den anderen Ergebnissen auf einen nicht idealen Normbereich für den RISTOtest und den TRAPtest schließen. Darauf wird im Kapitel 4 näher eingegangen.

Tabelle 14: Korrelationsanalyse der Agonisten von Multiplate®

		Korrelationsanalyse der Agonisten von Multiplate®				
		ADPtest	ASPItest	COLtest	RISTOtest	TRAPtest
Blutungs- anamnese	Korrelations- koeffizient	,017	-,120	-,537**	,080	,077
	Sig. (2-seitig)	,893	,344	,000	,530	,546
	N	64	64	64	64	64
Kompli- gesamt	Korrelations- koeffizient	-,027	,150	-,276*	,160	,190
	Sig. (2-seitig)	,848	,290	,048	,257	,177
	N	52	52	52	52	52
ADPtest	Korrelations- koeffizient	1,000	,264*	,138	,346**	,455**
	Sig. (2-seitig)	.	,035	,275	,005	,000
	N	64	64	64	64	64
ASPItest	Korrelations- koeffizient	,264*	1,000	,360**	,118	,328**
	Sig. (2-seitig)	,035	.	,003	,354	,008
	N	64	64	64	64	64
COLtest	Korrelations- koeffizient	,138	,360**	1,000	,095	,010
	Sig. (2-seitig)	,275	,003	.	,458	,940
	N	64	64	64	64	64
RISTOtest	Korrelations- koeffizient	,346**	,118	,095	1,000	,399**
	Sig. (2-seitig)	,005	,354	,458	.	,001
	N	64	64	64	64	64
TRAPtest	Korrelations- koeffizient	,455**	,328**	,010	,399**	1,000
	Sig. (2-seitig)	,000	,008	,940	,001	.
	N	64	64	64	64	64

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).
* . Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

3.4 Statistische Auswertung der PFA-100® Ergebnisse

Wie bereits in Tabelle 9 erwähnt, sind 61 Kinder erfasst, die mittels PFA-100® getestet wurden. Somit besitzen drei Kinder keine PFA-100® Messwerte.

3.4.1 Explorative Datenanalyse der PFA-100® Ergebnisse

In der Studie werden die Agonisten ADP und EPI für die PFA-100® Auswertungen herangezogen. Wie in Tabelle 15 ersichtlich, besitzen alle 61 Kinder der Studie Messergebnisse mit diesen Agonisten. Ihre Messergebnisse beziehen sich auf die Verschlusszeit, die in Sekunden (sek) angegeben wird, ihre Bedeutung ist auf S. 30 zu entnehmen.

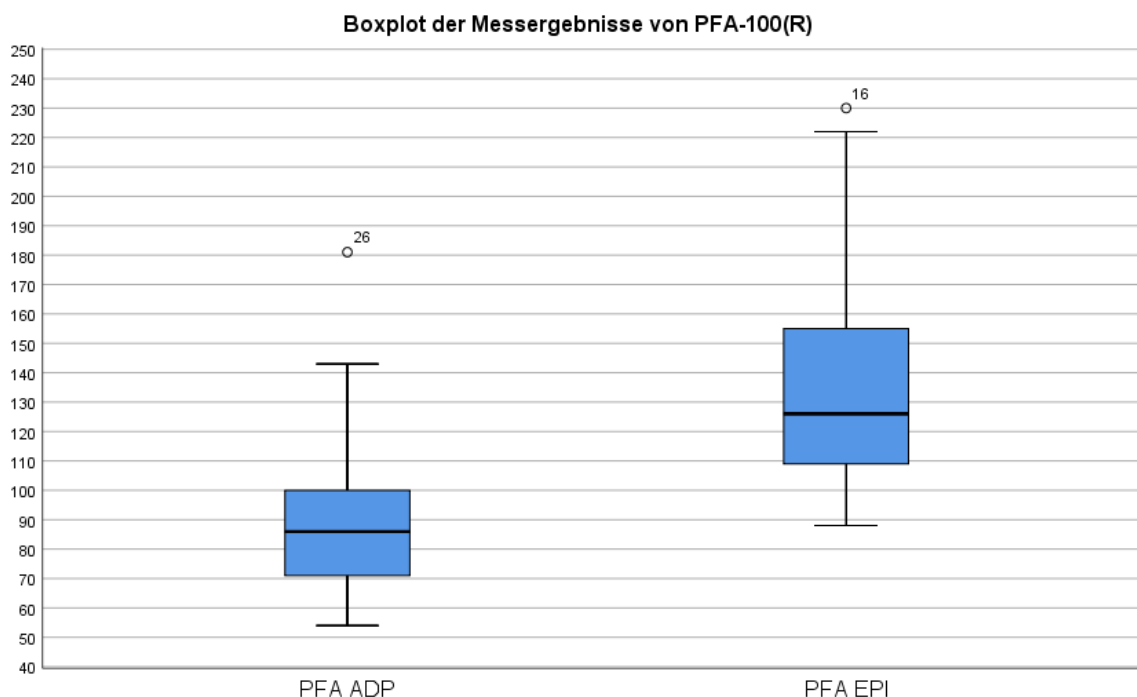
Dabei liegen die Mittelwerte für ADP bei 89,31 sek und für EPI bei 137,84 sek. Die 50. Perzentile (Median) liegt für ADP bei 86,00 sek und für EPI bei 126 sek.

Tabelle 15: Lagemaßen und Streuung der Messwerte von PFA-100®

		Lagemaß und Streuung der Messwerte von PFA-100®	
		PFA-ADP (sek.)	PFA-EPI (sek.)
Anzahl	Gültig	61	61
	Fehlend	3	3
Mittelwert		89,31	137,84
Median		86,00	126,00
Spannweite		127	212
Minimum		54	88
Maximum		181	300
Perzentile	25	71,00	108,50
	50	86,00	126,00
	75	100,50	158,00

Die Normbereiche für die jeweiligen Agonisten sind aus dem krankenhausinternen Referenzbereich entnommen worden. Diese liegen mit dem Agonisten ADP bei 68-121 sek. und mit dem Agonisten EPI bei 84-160 sek. Die Abbildung 18 stellt die Messergebnisse von PFA-100® als Boxplot dar. So befinden sich die Interquartilsabstände der gemessenen Werte der Agonisten ADP und EPI innerhalb der hauseigenen Referenzbereiche.

Abbildung 18: Boxplot der Messergebnisse von PFA-100®



Die Tabelle 16 zeigt die Anzahl der Kinder, die mit ihren Ergebnissen im oder außerhalb des Normbereichs liegen. So befinden sich 13 Kinder (21,3%) mit dem Agonisten ADP außerhalb des Normbereichs, während dies mit dem Agonisten EPI 15 Kinder (24,6%) sind. Somit sind 48 Kinder (78,7%) mit dem Agonisten ADP und 46 Kinder (75,4%) mit dem Agonisten EPI innerhalb des Normbereichs.

Tabelle 16: Anzahl der PFA-100® Messergebnisse, die sich außerhalb der Norm befinden

Anzahl der PFA-100® Messergebnisse, die sich außerhalb der Norm befinden			
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
PFA-ADP in der Norm?	Nein	13	21,3%
	Ja	48	78,7%
	Gesamt	61	100,0%
PFA-EPI in der Norm?	Nein	15	24,6%
	Ja	46	75,4%
	Gesamt	61	100,0%

Die Tabelle 17 vergleicht nochmals die Anzahl der im Normbereich befindlichen Kinder, jedoch werden alle Kinder herausgenommen, die sich vorab mit beiden Agonisten im Normbereich befinden. Daraus ergeben sich insgesamt 22 Kinder (36,1%), die sich mit mindestens einem der beiden Agonisten außerhalb der Norm befinden. Aus der Tabelle 17 geht ebenso hervor, dass von den 22 Kindern mit dem Agonisten ADP neun Kinder (40,9%) außerhalb der Norm liegen. Beim Agonisten EPI sind es sieben Kinder (31,8%).

Es gibt sechs Kinder, die sich in beiden der getesteten Agonisten außerhalb des Normbereichs befinden. Unter diesen sechs Kindern ist nur eines dabei, dass sowohl eine positive Blutungsanamnese zeigt als auch eine Komplikation erlitt. Die restlichen fünf Kinder haben weder eine positive Blutungsanamnese, noch erlitten sie Komplikationen.

Tabelle 17: Anzahl der PFA-100® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich

Anzahl der PFA-100® Messergebnisse von ausgewählten Fällen im Normbereich			
		Anzahl	Anzahl als Spalten (%)
PFA-ADP In der Norm?	Nein	13	59,1%
	Ja	9	40,9%
	Gesamt	22	100,0%
PFA-EPI In der Norm?	Nein	15	68,2%
	Ja	7	31,8%
	Gesamt	22	100,0%

3.4.2 Berechnung der Sensitivität und Spezifität der PFA-100® Werte

Die Tabelle 18 veranschaulicht die Messwerte der beiden Agonisten, ob sie sich einerseits im Normbereich befinden und andererseits, ob sie dazu peri- oder postoperative Komplikationen aufweisen. Wie bereits in Tabelle 5 erwähnt, wiesen sieben Kinder perioperative und fünf Kinder postoperative Komplikationen auf.

Beim Agonisten ADP haben 35 Kinder Messwerte im Normbereich und dabei keine perioperativen Komplikationen erlitten. Fünf Kinder weisen hingegen Komplikationen trotz Werte im Normbereich auf. Acht Kinder haben ein auffälliges Ergebnis mit dem Agonisten ADP und erlitten keine perioperativen Komplikationen.

Ein Kind hingegen zeigt Auffälligkeiten mit dem Agonisten ADP und erlitt eine perioperative Komplikation. Das ergibt bei den perioperativen Komplikationen eine Sensitivität von 16,6% mit einer Spezifität von 81,4%. Der Agonist EPI liefert im Rahmen der perioperativen Komplikationen dieselben Ergebnisse.

In Hinblick auf die postoperativen Komplikationen liefert der Agonist EPI minimal bessere Ergebnisse als der Agonist ADP. So besitzen vier Kinder (8,0%) mit dem Agonisten ADP Normwerte und erlitten dennoch eine postoperative Komplikation, während dies mit dem Agonisten EPI lediglich drei Kinder (6,0%) sind. Bei beiden Agonisten zeigen neun Kinder (18,0%) keine postoperativen Komplikationen, obwohl sie mit ihren Werten außerhalb des Normbereichs liegen. Ebenso haben beide Agonisten mit jeweils 37 Kindern (74,0%) Werte innerhalb des Normbereichs bei keinem Auftreten einer postoperativen Komplikation.

Tabelle 18: Anzahl der aufgetretenen Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von PFA-100®

		Anzahl der aufgetretenen Komplikationen in Abhängigkeit der Agonisten von PFA-100®							
		perioperative Komplikation				postoperative Komplikationen			
		Nein		Ja		Nein		Ja	
PFA-ADP	Nein	8	16,3%	1	2,0%	9	18,0%	0	0,0%
In der Norm?	Ja	35	71,4%	5	10,2%	37	74,0%	4	8,0%
PFA-EPI	Nein	8	16,3%	1	2,0%	9	18,0%	1	2,0%
In der Norm?	Ja	35	71,4%	5	10,2%	37	74,0%	3	6,0%

3.4.3 Korrelationsanalyse mit den Agonisten von PFA-100®

Die Korrelationsanalyse nach Spearman aus Tabelle 19 lässt auf keine Korrelation zwischen den Agonisten ADP oder EPI mit den Komplikationen (gesamt) und mit der Blutungsanamnese zurückführen. Nur zwischen den beiden Agonisten lässt sich eine Korrelation ausfindig machen, die mit einer Signifikanz von 0,043 einhergeht.

Tabelle 19: Korrelationsanalyse der Agonisten von PFA-100®

Korrelationsanalyse der Agonisten von PFA-100®			
		PFA-ADP	PFA-EPI
Blutungsanamnese	Korrelationskoeffizient	-,068	-,029
	Sig. (2-seitig)	,601	,823
	N	61	61
Komplikationen gesamt	Korrelationskoeffizient	,104	,000
	Sig. (2-seitig)	,472	1,000
	N	50	50
PFA-ADP	Korrelationskoeffizient	1,000	,261*
	Sig. (2-seitig)	.	,043
	N	61	61
PFA-EPI	Korrelationskoeffizient	,261*	1,000
	Sig. (2-seitig)	,043	.
	N	61	61

*. Die Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau signifikant (zweiseitig).

3.5 Vergleich Multiplate® und PFA-100®

In den vorherigen Kapiteln sind die beiden Messmethoden getrennt nach Agonisten untersucht worden. Im direkten Vergleich werden die Agonisten nicht mehr getrennt betrachtet. Wenn einer der fünf Agonisten von Multiplate® bzw. einer der beiden Agonisten von PFA-100® auffällig sind, so gilt das Gesamtergebnis als „Pathologisch“. Zusätzlich werden die peri- und postoperativen Komplikationen als Komplikationen (gesamt) zusammengefasst.

Die Tabelle 20 stellt die Ergebnisse von Multiplate® und PFA-100® gegenüber und vergleicht diese hinsichtlich des Auftretens von Komplikationen. Bei Multiplate® befinden sich 20 Kinder mit ihren Ergebnissen im Normbereich und 21 Kinder außerhalb des Normbereichs, ohne dem Auftreten einer Komplikation. Somit ergibt dies eine Spezifität von 48,8%. Bei elf Kindern kam es zu Komplikationen, davon haben drei Kinder ein auffälliges und acht Kinder ein unauffälliges Multiplate® Gesamtergebnis. Dies führt zu einer Sensitivität von 27,3%.

Die Tabelle 20 veranschaulicht ebenso die Ergebnisse von PFA-100[®]. So weisen 27 Kinder mit ihren Werten im Normbereich und 13 Kinder außerhalb des Normbereichs keine Komplikationen auf. Somit ergibt dies eine Spezifität von 67,5%. Bei zehn Kindern kam es zu Komplikationen, wovon zwei Kinder ein auffälliges und acht Kinder ein unauffälliges PFA-100[®] Gesamtergebnis haben. Dies führt zu einer Sensitivität von 20,0%.

Somit weist Multiplate[®] genauere Ergebnisse im Rahmen der Sensitivität auf, wohingegen PFA-100[®] exaktere Ergebnisse in Bezug auf die Spezifität erbringt.

Tabelle 20: Anzahl an Komplikationen zu den Gesamtergebnissen von Multiplate[®] und PFA-100[®]

		Anzahl an Komplikationen zu den Gesamtergebnissen von Multiplate[®] und PFA-100[®]			
		Komplikationen (gesamt)			
		Nein		Ja	
Multiplate	Pathologisch	21	40,4%	3	5,8%
	Normbereich	20	38,5%	8	15,4%
PFA-100	Pathologisch	13	26,0%	2	4,0%
	Normbereich	27	54,0%	8	16,0%

Wie bereits in den vorherigen Auswertungen ersichtlich, weisen der RISTOtest und der TRAPtest die meisten pathologischen Werte (siehe Tabelle 12) in der Multiplate[®]-Messung auf. Das Multiplate[®] Gesamtergebnis umfasst im Verhältnis 1:2,5 mehr Agonisten als PFA-100[®]. Daher ist die Wahrscheinlichkeit größer, dass einer der fünf Agonisten bei Multiplate[®] außerhalb der Norm liegt und dementsprechend das Gesamtergebnis als „Pathologisch“ eingestuft wird. Dieser Aspekt ist im Kapitel 4 näher erläutert.

Die Tabelle 21 stellt, wie die vorherige Tabelle 20, Multiplate[®] und PFA-100[®] mit den Komplikationen gegenüber, mit dem Unterschied, dass sich nun das Gesamtergebnis von Multiplate[®] aus dem ADPtest, ASPItest und COLtest zusammensetzt. Der RISTOtest und der TRAPtest werden diesmal außer Acht gelassen, da die Kinder in diesen beiden Tests die meisten Auffälligkeiten zeigen.

Die Tabelle 21 dient vor allem für das Kapitel 4. Durch das Weglassen der beiden Agonisten liefert Multiplate® in allen Bereichen genauere Ergebnisse. Somit liegt die Sensitivität nun bei 27,3% und die Spezifität bei 85,4%.

Tabelle 21: Vergleich Multiplate® (ohne RISTO, TRAP) und PFA-100® zu Komplikationen

		Vergleich Multiplate® (ohne RISTO, TRAP) und PFA-100® zu Komplikationen			
		Komplikationen (gesamt)			
		Nein		Ja	
Multiplate	Pathologisch	6	11,5%	3	5,8%
	Normbereich	35	67,3%	8	15,4%
PFA-100	Pathologisch	13	26,0%	2	4,0%
	Normbereich	27	54,0%	8	16,0%

3.5.1 Korrelationsanalyse PFA-100® und Multiplate®

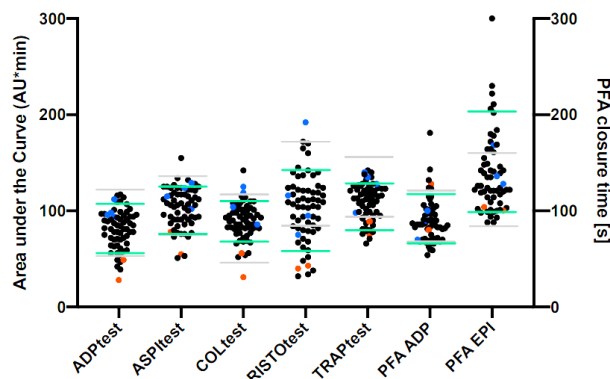
Die Tabelle 22 überprüft mittels Spearman, ob eine Korrelation zwischen den Gesamtergebnissen von Multiplate® und PFA-100® mit der Blutungsanamnese und mit den Komplikationen (gesamt) besteht. Das Gesamtergebnis von Multiplate® beinhaltet in dieser Tabelle nun wieder alle fünf Agonisten. Die Analyse nach Spearman ergibt keine signifikante Korrelation.

Tabelle 22: Korrelationsanalyse von Multiplate® und PFA-100® (gesamt)

		Korrelationsanalyse von Multiplate® und PFA-100® (gesamt)	
		Multiplate	PFA-100
Blutungsanamnese	Korrelationskoeffizient	,035	-,092
	Sig. (2-seitig)	,783	,482
	N	64	61
Komplikationen gesamt	Korrelationskoeffizient	,196	,109
	Sig. (2-seitig)	,163	,451
	N	52	50
Multiplate	Korrelationskoeffizient	1,000	,018
	Sig. (2-seitig)	.	,890
	N	64	61
PFA-100	Korrelationskoeffizient	,018	1,000
	Sig. (2-seitig)	,890	.
	N	61	61

3.6 Zusammenfassung der Resultate

Abbildung 19: Gesamtüberblick aller Messergebnisse



Hauseigener Referenzbereich (graue Striche), 10. und 90. Perzentile (grüne Striche), Kinder ohne postoperative Nachblutung und Thrombozytopenie (schwarze Punkte), Kinder mit postoperativen Nachblutungen (blaue Punkte), Kinder mit einer Thrombozytopenie (rote Punkte)

Die Abbildung 19 listet alle Kinder mit allen Agonisten von Multiplate® und PFA-100® auf. Die grünen Linien kennzeichnen die 10. und 90. Perzentile der gemessenen Werte unter dem Ausschluss der Messwerte von Kindern mit postoperativen Nachblutungen oder mit einer Thrombozytopenie. Die grauen Linien hingegen präsentieren die hauseigenen Referenzbereiche.

Der ADPtest, der ASPItest und der COLtest liegen hierbei nahezu im Normbereich, während sich beim RISTOtest und beim TRAPtest einige Ausreißer zeigen. Die Normbereiche des RISTOtests und des TRAPtests liegen weit unter der 10. und 90. Perzentile. Die Normbereiche von PFA-100® umfassen eine größere Bandbreite, sodass sich die meisten Ergebnisse im Normbereich befinden. Der Normbereich mit dem Agonisten EPI liegt dabei weit über der 90. Perzentile. Zusätzlich liegen einige Kinder mit ihren Messergebnissen bei PFA-100® deutlich über dem Normbereich.

Die roten Punkte stellen die Messergebnisse von Kindern mit einer Thrombozytopenie dar. Dabei ist ersichtlich, dass Multiplate® viel empfindlicher auf eine Thrombozytopenie reagiert. Die thrombozytopenischen Kinder liegen bei Multiplate® deutlich unter dem Normbereich, während diese bei PFA-100® weitgehendst unauffällig bleiben. Die blauen Punkte zeigen die Messergebnisse der Kinder mit postoperativen Nachblutungen an. Diese befinden sich sowohl im als auch über den Normbereichen.

4 Diskussion

In diesem Kapitel wird auf die eben dargestellten Ergebnisse näher eingegangen. Diese retrospektive Studie wird mit Studien mit ähnlichem Studiendesign verglichen, um weitere Schlussfolgerungen ziehen zu können. Außerdem werden im Anschluss daran die Limitationen dieser Studie betrachtet, die in der Diskussion erörtert wurden, um Raum für eventuelle weitere Studien zu schaffen.

4.1 Referenzbereiche und Altersgruppen

Die Studie von Halimeh et. al. teilt die Kinder in Altersgruppen auf, um pädiatrische Referenzbereiche zu schaffen. [34] Deren Studie beinhaltet mehr Teilnehmer und Teilnehmerinnen als diese retrospektive Studie, weshalb eine Gliederung in Altersgruppen bei Halimeh et. al. möglich ist.

Die Altersgruppen von Halimeh et. al. können für diese Studie nicht herangezogen werden, da die Altersklasse 1 (0.-1. Lj.) nur zwei Kinder beinhaltet. Aufgrund der geringen Gruppengröße kann auch mit der Varianzanalyse keine valide Aussage getroffen werden.

Somit werden die Mittelwerte der 10. Perzentile aller Altersgruppen von Halimeh et. al. herangezogen, um diese mit den 10. Perzentilen der aktuellen Studie zu vergleichen. Die 10. Perzentilen der Studie von Halimeh et. al. sind in der Abbildung 20 aufgelistet und die der aktuellen Studie befinden sich in der Tabelle 10. Die Werte von Halimeh et. al. werden als AU*min angegeben, um die gleiche Einheit „U“ zu erhalten, wurden deren Ergebnisse durch 10 dividiert.

Daraus ergeben sich die Mittelwerte für die 10. Perzentilen von Halimeh et. al.:

- ADPtest: 38,5 U
- ASPItest: 53,1 U
- COLtest: 44,9 U
- RISTOtest: 101,0 U
- TRAPtest: 56,1 U.

Die 10. Perzentile der gegenwärtigen Studie sind wie folgt (Tabelle 10):

- ADPtest: 51,5 U
- ASPItest: 76,0 U
- COLtest: 66,5 U
- RISTOtest: 50,0 U
- TRAPtest: 79,5 U.

Abbildung 20: Referenzwerte für Säuglinge und Kinder aus der Studie von Halimeh

Table 1 Median and 95 % confidence interval M[95 %CI] as well as 10th and 5th age dependent percentiles of platelet function according to age groups (back transformed after logarithmic transformation).

Age group	0.1–12 months	1.1–4 y	5–9 y	10–<18 y
Probands [n]	20	90	60	95
	M [95 % CI]	M [95 % CI]	M [95 % CI]	M [95 % CI]
	10 th percentile	10 th percentile	10 th percentile	10 th percentile
	5 th percentile	5 th percentile	5 th percentile	5 th percentile
adenosine diphosphate (ADP)				
velocity [AU]/min	20 [14–23] 5.3 ND	17 [16–19] 11 7.5	17 [15–18] 9 8	17 [16–19] 11 9
aggregation [AU]	107 [74–123] 31 ND	112 [109–123] 77 54	114 [101–119] 66 58	114 [108–122] 79 67
AUC	659 [389–827] 243 ND	697 [656–749] 482 324	687 [624–739] 384 351	683 [649–732] 430 282
collagen (COL)				
velocity [AU]/min	21 [18–27] 12 ND	22 [20–23] 15 13	21 [19–22] 13 12	19 [18–21] 11 9
aggregation [AU]	129 [101–144] 67 ND	137 [133–147] 105 97	134 [127–142] 98 91	131 [126–140] 93 77
AUC	777 [639–920] 395 ND	779 [715–815] 564 503	745 [675–787] 447 420	708 [678–763] 389 257
*thrombin receptor-activating peptide (TRAP)				
velocity [AU]/min	21 [16–24] 9 ND	24 [22–25] 17 14	24 [23–26] 17 15	25 [24–26] 19 17
aggregation [AU]	101 [82–118] 53 ND	143 [132–148] 97 73	142 [136–153] 103 96	144 [140–152] 105 94
AUC	606 [484–782] 324 ND	800 [712–898] 580 437	894 [837–953] 673 578	921 [867–965] 667 537
*arachidonic acid (ASPI)				
velocity [AU]/min	23 [16–29] 12 ND	23 [21–26] 16 15	24 [21–26] 18 16	23 [22–25] 18 15
aggregation [AU]	93 [80–114] 68 ND	130 [123–137] 89 81	129 [121–137] 98 80	129 [127–140] 102 87
AUC	587 [481–734] 279 ND	830 [790–899] 574 454	834 [770–902] 612 558	834 [794–878] 658 517
ristocetin (Risto)				
velocity [AU]/min	50 [38–64] 24 ND	42 [39–45] 27 24	44 [40–46] 30 26	41 [40–45] 29 26
aggregation [AU]	222 [191–289] 151 ND	252 [234–263] 179 147	252 [237–271] 214 187	243 [239–260] 192 170
AUC	1 442 [877–1 654] 891 ND	1 446 [1 293–1 496] 1 032 904	1 379 [1 303–1 446] 1 087 984	1 323 [1 250–1 365] 1 030 903

* significant difference between age groups
 ND: not determined
 AU: arbitrary units
 AUC: area under the curve

Ref: S. Halimeh, G. Angelis, A. Sander, C. Edelbusch, H. Rott, S. Thedieck, R. Mesters, N. Schlegel und U. Nowak-Göttl, „Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents,“ *Klin Padiatr.*, Nr. 222(3), p. 160, 2010.

Zusätzlich zieht man die Mittelwerte (unabhängig den Perzentilen) der Studie von Peerschke heran. [35] Diese befinden sich in der Abbildung 21 unter „AUC Mean (SD)“. Die Mittelwerte der aktuellen Studie sind in der Tabelle 10 zu finden. Die Studie von Peerschke beinhaltet Teilnehmer und Teilnehmerinnen mit einem Durchschnittsalter von 41 Jahren und hat demzufolge keine Gliederung des Alters. [34]

Die Mittelwerte (Hirudin) von Peerschke sind wie folgt:

- ADPtest: 88,5 U
- ASPItest: 103,4 U
- COLtest: 81,7 U
- RISTOtest (hi): 104,5 U
- TRAPtest: 130,3 U.

Die Mittelwerte der aktuellen Studie sind wie folgt (Tabelle 10):

- ADPtest: 81,0 U
- ASPItest: 103,2 U
- COLtest: 89,2 U
- RISTOtest: 103,1 U
- TRAPtest: 109,1 U.

Abbildung 21: Referenzwerte für Erwachsene aus der Studie von Peerschke

Agonist/Anticoagulant	No.	AUC Mean (SD)	Median	P5-P95
ADP				
Hirudin	193	88.5 (20.28)	87.0	56.0-125.0
Li-heparin	193	98.8 (21.30)	98.0	66.0-136.0
Na-citrate	192 ^b	68.6 (20.12)	69.0	36.0-101.0
ADP-HS				
Hirudin	193	76.9 (23.05)	76.0	41.0-114.0
Li-heparin	193	93.2 (21.40)	92.0	60.0-130.0
ASPI				
Hirudin	193	103.4 (23.61)	105.0	64.0-137.0
Li-heparin	193	109.2 (25.71)	108.0	67.0-150.0
Na-citrate	193	72.3 (18.08)	74.0	42.0-100.0
COL				
Hirudin	192 ^b	81.7 (19.75)	81.5	48.0-112.0
Li-heparin	193	86.2 (20.80)	85.0	55.0-122.0
Na-citrate	193	51.7 (16.47)	52.0	24.0-79.0
RISTO hi				
Hirudin	191 ^b	104.5 (33.88)	105.0	55.0-157.0
Li-heparin	193	100.8 (25.50)	99.0	63.0-145.0
Na-citrate	193	79.8 (30.06)	80.0	27.0-124.0
RISTO LO				
Hirudin	192 ^b	11.8 (9.91)	10.0	2.0-27.0
Li-heparin	193	27.1 (11.77)	25.0	12.0-48.0
Na-citrate	193	8.9 (4.71)	8.0	2.0-17.0
TRAP				
Hirudin	193	130.3 (26.12)	130.0	86.0-175.0
Li-heparin	193	131.4 (23.21)	131.0	95.0-171.0
Na-citrate	193	104.6 (19.60)	101.0	75.0-137.0

P5, 5th percentile; P95, 95th percentile. For definitions of other abbreviations, see Table 1.

^a Data reflect pooled results expressed in area under the curve (AUC) ($P < .0001$).

^b n < 193 due to quantity not sufficient for sample repeat.

Ref: E. Peerschke, D. Castellone, A. Stroobants und J. Francis, „Reference Range Determination for Whole-Blood Platelet Aggregation Using the Multiplate Analyzer,“ Am J Clin Pathol., Nr. 142, p. 651.

Die hauseigenen Referenzbereiche befinden sich näher zu denen der Erwachsenen als zu denen der Kinder. Dennoch ordnen sich die meisten Kinder im Normbereich (Tabelle 12) an. Die meisten Auffälligkeiten zeigen die Kinder im RISTOtest und TRAPtest, weshalb hier der hauseigene Referenzbereich angepasst werden könnte. Zusammenfassend würde dies für die Erstellung neuer hauseigener Referenzbereiche für Multiplate® sprechen.

Um hauseigene Referenzbereiche in den entwicklungsbedingten Altersgruppen zu unterteilen, bedürfte es einer weiterführenden Studie mit einer größeren Anzahl an Teilnehmern und Teilnehmerinnen. Die Aufteilung in Altersgruppen würde ein exakteres Screening ermöglichen, da es Unterschiede in den jeweiligen Entwicklungsperioden (Kapitel 1.1.4) gibt und die Studie von Halimeh et. al. auch Unterschiede feststellt.

4.2 Sensitivität und Spezifität

Die Ergebnisse aus dem Kapitel 3.5 weisen mit Multiplate® eine Sensitivität von 27,3% und eine Spezifität von 48,8% auf. PFA-100® hat im Vergleich dazu eine Sensitivität von 20,0% und eine Spezifität von 67,5%. Somit weist Multiplate® genauere Ergebnisse im Rahmen der Sensitivität auf, wohingegen PFA-100® exaktere Ergebnisse in Bezug auf die Spezifität erbringt.

Wie bereits erwähnt, besitzt Multiplate® mehrere Agonisten, womit die Wahrscheinlichkeit höher ausfällt, dass einer von den fünf Tests pathologisch sein könnte und somit das Gesamtergebnis beeinflusst. Zusätzlich weisen weitere Ergebnisse (Abbildung 19) darauf hin, dass der Referenzbereich insbesondere für den RISTOtest und für den TRAPtest angepasst werden sollte.

Dadurch würde die falsch-positiv Rate abnehmen und sich somit die Spezifität verbessern. Hinweise darauf zeigt die Tabelle 21, die die Sensitivität und Spezifität unter Ausschluss des RISTOtests und des TRAPtests begutachtet.

Der hauseigene Referenzbereich wurde aus der 10. und der 90. Perzentile aus früheren Studien erstellt. Durch die Erkenntnisse der aktuellen Studie lassen sich neue Referenzbereiche erstellen. Die Tabelle 23 zeigt die 10. und die 90. Perzentile der gegenwärtigen Studie unter Ausschluss der Kinder mit Komplikationen oder einer fehlenden Komplikations-Angabe (Behandlung in externen Krankenhäusern).

Tabelle 23: 10. und 90. Perzentile von Multiplate® bei ausgewählten Fällen

10. und 90. Perzentile von Multiplate® bei ausgewählten Fällen						
		ADPtest	ASPItest	COLtest	RISTOtest	TRAPtest
	Gültig	41	41	41	41	41
	Fehlend	0	0	0	0	0
Perzentile	10	54,40	73,60	66,20	44,00	78,40
	90	101,40	124,80	109,60	141,60	128,00

Die Tabelle 24 veranschaulicht die Aufdeckungsrate unter Anwendung der neuen Referenzbereiche für alle Agonisten von Multiplate®. Mithilfe der neuen Referenzbereiche werden die Sensitivität und die Spezifität von Multiplate® erneut ermittelt. Multiplate® besitzt nach Anpassung der Referenzbereiche eine Sensitivität von 63,6% und eine Spezifität von 53,7%. Diesmal liegen die angepassten hauseigenen Referenzbereiche näher bei den Referenzbereichen der Kinder aus der Studie von Halimeh et. al.

Tabelle 24: Aufdeckungsrate von Multiplate® unter den neuen Referenzbereichen

Aufdeckungsrate von Multiplate® unter den neuen Referenzbereichen			
		Komplikationen	
		Nein	Ja
Multiplate	Pathologisch	19	7
	Normbereich	22	4

Die Tabelle 21 und die Abbildung 19 zeigen unter den hauseigenen Referenzbereichen für den ADPtest, den ASPItest und den COLtest genaue Ergebnisse hinsichtlich der Aufdeckungsrate an. Unter Belassung der alten hauseigenen Referenzbereiche dieser drei Agonisten, jedoch mit der Verwendung der neuen Referenzbereiche für den RISTOtest und den TRAPtest, ergibt sich insgesamt eine Sensitivität von 54,5% und eine Spezifität von 65,9% (Tabelle 25).

Tabelle 25: Aufdeckungsrate von Multiplate® mit neuen Referenzbereiche für den RISTOtest und den TRAPtest

		Komplikation	
		Nein	Ja
Multiplate	Pathologisch	14	6
	Norm	27	5

Zusammenfassend liegen die neuen Referenzbereiche für den ADPtest, den ASPItest und den COLtest näher an denen der Erwachsenen, während sich die für den RISTOtest und den TRAPtest an die pädiatrischen Referenzbereiche von Halimeh et. al. annähern.

4.3 Einfluss der Thrombozytopenie

Die roten Punkte in Abbildung 19 stellen die Messergebnisse von Kindern mit einer Thrombozytopenie dar. Dabei ist erkenntlich, dass Multiplate® viel empfindlicher auf eine Thrombozytopenie reagiert. Die thrombozytopenischen Kinder liegen bei Multiplate® deutlich unter dem Normbereich, während diese bei PFA-100® weitgehendst unauffällig bleiben. Die thrombozytopenischen Kinder liegen im TRAPtest innerhalb des Normbereichs, weisen jedoch nach Anpassung des hauseigenen Referenzbereichs auch Auffälligkeiten bei diesem Agonisten auf.

4.4 Limitationen der Studie

Auf die Limitationen dieser Studie wurde bereits teilweise in den vorherigen Seiten eingegangen. Nochmals erwähnt sei die geringe Anzahl an Studienteilnehmern und Studienteilnehmerinnen. Dadurch konnte keine Zuordnung in Altersgruppen erfolgen bzw. keine valide Aussage in der Varianzanalyse ermöglicht werden. Dies ist jedoch von Bedeutung, da wie in Kapitel 1.1.4 erwähnt, altersspezifische Unterschiede in der Thrombozytenaggregation vorhanden sind.

Die geringe Gruppengröße wurde zusätzlich durch Kinder geschmälert, die ihr präoperatives Screening zwar an der Grazer Kinderklinik durchführen ließen, jedoch die Operationen und die Weiterbetreuung an einem externen Krankenhaus fortführten. Somit fehlten einige Angaben zu den Komplikationen. Weiters wurden die Komplikationen vorab nicht genau definiert. So hatte ein Kind als postoperative Komplikation ein subkutanes Hämatom, andere Kinder wiederum Nachblutungen. Wie erwähnt, unterzogen sich die Kinder verschiedenen Operationen mit unterschiedlichen Komplikationswahrscheinlichkeiten. Außerdem wurde nicht jedes Kind operiert.

Die postoperativen Nachblutungen in Abbildung 19 werden als blaue Punkte dargestellt. Wie bereits erwähnt, liegen die Kinder mit ihren Messergebnissen dabei im und über dem Normbereich. Dies könnte für Störungen außerhalb der primären Hämostase sprechen. Peri- und postoperative Blutungsereignisse sind keine spezifischen Marker für Störungen der primären Hämostase. Deren Ätiologie ist multifaktoriell. Neben Störungen der primären Hämostase können auch unerkannte Störungen der sekundären Hämostase zu Blutungen führen. So wurden Kinder mit einer verlängerten Prothrombinzeit oder aktivierter partieller Thromboplastinzeit nicht ausgeschlossen.

Diese multifaktorielle Ätiologie der peri- und postoperativen Blutungen erklärt die niedrige Spezifität und Sensitivität der beschriebenen Methoden, welche nur Störungen der primären Hämostase erfassen. Folglich können sowohl PFA-100® als auch Multiplate® nur Teile einer umfassenden Blutungsanamnese darstellen.

Zusätzlich erhielten die Kinder verschiedene Operationen mit unterschiedlicher Blutungswahrscheinlichkeit: So weist die Tonsillotomie eine geringere Blutungswahrscheinlichkeit auf als eine Tonsillektomie. [36] Durch Einflussfaktoren wie den anatomischen Verhältnissen, der jeweilige/n Chirurg/in, die Technik und die Lokalisation des operativen Eingriffs können weder PFA-100® noch Multiplate® alle Nachblutungen vorhersagen.

Der Vergleich beider Messmethoden wurde zudem erschwert, indem nicht jedes Kind für beide Methoden Messwerte aufwies. So standen für Multiplate® mehr Daten zur Verfügung als für PFA-100®.

5 Konklusion

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen auf, dass Multiplate® in der pädiatrischen Kohorte als nennenswertes Screeningtool in Frage kommt. Die geringe Studienlage von Multiplate® in der Pädiatrie schafft momentan einen Spielraum für die Ermittlung passender Referenzbereiche. Nach Anpassung hauseigener Referenzbereiche eignet sich Multiplate® als präoperatives Screeningtool. Zusätzlich berücksichtigt Multiplate® mehrere Einflussfaktoren (z.B. Thrombozytopenie), die im Vergleich mit PFA-100® weitgehendst ungeachtet bleiben.

Obwohl die anfänglichen Referenzbereiche näher an denen der Erwachsenen lagen, näherten sie sich nach Anpassung an jene der Kinder aus Halimeh et. al. an. Eine weiterführende Studie mit einer größeren Anzahl an Kindern, um geeignete Altersgruppen schaffen zu können, wäre ein Vorteil zur Ermittlung altersspezifischer Referenzbereiche.

Die Hypothese dieser Studie, dass Multiplate® eine genauere Aufdeckungsrate als PFA-100® erbringt, erwies sich als richtig, da die Sensitivität bereits vor der Anpassung der Referenzbereiche höher lag als die von PFA-100®. Zusätzlich stieg die Sensitivität um das Doppelte an, nachdem die hauseigenen Referenzbereiche für Multiplate® angepasst wurden.

Literaturverzeichnis

- [1] Pape H.-C., Kurtz A., Silbernagel S., et al. 2014. Physiologie. 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/ New York. S. 292-301.

- [2] Horn F., Moc I., Ziegler P., et al. 2015. Biochemie des Menschen. 6. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/ New York. S. 580-585.

- [3] Behrends J. C., Bischofsberger J., Deutzmann R., et al. 2017. Duale Reihe Physiologie. 3. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/ New York. S. 189-197.

- [4] Hoffman M., Monroe D. M. 2001. A Cell-based Model of Hemostasis. Thrombosis and Haemostasis. 85: 958-965.

- [5] Hézard N., Potron G., Schlegel N., et al. 2003. Platelets and Blood Cells - Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: A flow cytometric study in neonates, infants and older children. Thrombosis and Haemostasis. 90: 116-123.

- [6] Sola-Visner M. 2012. Platelets in the neonatal period: developmental differences in platelet production, function, and hemostasis and the potential impact of therapies. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2012: 506-511.

- [7] Hvas A.-M., Favaloro E. J. 2017. Platelet function testing in pediatric patients. Expert Review of Hematology. 10: 281-288.

- [8] „kinderblutkrankheiten.de,“ [Online]. Available: <https://www.kinderblutkrankheiten.de/content/erkrankungen/blutplaettchen/thrombozytenfunktionsstoerungen/haeufigkeit/>. [Zugriff am 18 03 2020].

- [9] „European Commission,“ [Online]. Available: https://ec.europa.eu/health/non_communicable_diseases/rare_diseases_en 18.02.2020. [Zugriff am 18 03 2020].
- [10] Bruhn H. D., Hach-Wunderle V., Schambeck C., et al. 2011. Hämostaseologie für die Praxis: Sicher durch den klinischen Alltag. 2. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart. S. 244-286.
- [11] Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung e.V., „Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien,“ [Online]. Available: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/086-003.html>. [Zugriff am 18 07 2020].
- [12] Drogies T., Braunert L., Thiery J., et al. 2011. Update: Thrombozytopathie. Journal of Laboratory Medicine. 35(2): 67-74.
- [13] „Practical-Haemostasis.com,“ [Online]. Available: https://practical-haemostasis.com/Platelets/platelet_function_testing_Ita.html. [Zugriff am 17 07 2020].
- [14] „Orphanet,“ [Online]. Available: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=DE&Expert=721. [Zugriff am 23 12 2020].
- [15] Sadler J. E., et al. 2006. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: A report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 4: 2103-2114.
- [16] „Von Willebrand Factor [VWF]: Introduction,“ [Online]. Available: https://practical-haemostasis.com/Factor%20Assays/vwf/vwf_assays_introduction.html. [Zugriff am 19 07 2020].

- [17] Schmidt D., Bruzelius M., Majeed A., et al. 2017. Whole blood ristocetin-activated platelet impedance aggregometry (Multiplate) for the rapid detection of Von Willebrand disease. *Thrombosis and Haemostasis*. 8: 1528-1533.
- [18] Michelson A. 2007. *Platelets*. 2. Auflage, Elsevier Verlag, Boston. S. 1059-1062.
- [19] Freissmuth M., Offermanns S., Böhm S. 2012. *Pharmakologie & Toxikologie*. 1. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg. S. 417-420.
- [20] Freissmuth M., Offermanns S., Böhm S. 2012. *Pharmakologie & Toxikologie*. 1. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg. S. 177-179.
- [21] Michelson A. 2007. *Platelets*. 2. Auflage. Elsevier Verlag, Boston. S. 1128-1130.
- [22] Paniccia R., Priora R., Alesandrello L. A., et al. 2015. Platelet function tests: A comparative review. *Vascular Health and Risk Management*, 11: 133-148.
- [23] Pötzsch B., Madlener K. 2002. *Gerinnungskonsil: Rationelle Diagnostik und Therapie von Gerinnungsstörungen*. 1. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/ New York. S. 192-208.
- [24] Cattaneo M. 2009. Light Transmission Aggregometry and ATP Release for the Diagnostic Assessment of Platelet Function. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 35: 158-167.
- [25] Gibbins J., Mahaut-Smith M. 2004. Platelets and megakaryocytes, Volume 1: Functional Assays. *Methods in Molecular Biology*. 272: 215-223.

- [26] Roschitz B., Thaller S., Koestenberger M., et al. 2007. PFA-100 closure times in preoperative screening in 500 pediatric patients. *Thrombosis and Haemostasis*. 98 (1): 243-247.
- [27] Michelson A.. 2007. *Platelets*. 2. Auflage, Elsevier Verlag, Boston. S. 521-524.
- [28] Michelson A. 2007. *Platelets*. 2. Auflage, Elsevier Verlag, Boston. S. 528-529.
- [29] Gibbins J., Mahaut-Smith M. 2004. *Platelets and megakaryocytes, Volume 1: Functional Assays. Methods in Molecular Biology*. 272: 77-80.
- [30] Calatzis A. 2007. Vollblutverfahren zur Erfassung der primären Hämostase. *Journal of Laboratory Medicine*. 31(6): 239–247.
- [31] Bruhn H. D., Hach-Wunderle V., Schambeck C. et al. 2011. *Hämostaseologie für die Praxis: Sicher durch den klinischen Alltag*. 2. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart. S. 10-24.
- [32] „Roche Deutschland GmbH,“ 2018. [Online]. Available: <https://www.roche.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/Multiplate®-analyzer.html#Merkmale>. [Zugriff am 17 06 2019].
- [33] Seyfert U. T., Haubelt H., Vogt A., et al. 2007. Variables influencing Multiplate(TM) whole blood impedance platelet aggregometry and turbidimetric platelet aggregation in healthy individuals. *Platelets*, 18(3): 199-206.
- [34] Peerschke E., Castellone D., Stroobants A., et al. 2014. Reference Range Determination for Whole-Blood Platelet Aggregation Using the Multiplate Analyzer. *Am J Clin Pathol*. 142 (5): 647-656.

- [35] Halimeh S., Angelis G., Sander A., et al. 2010. Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents. *Klin Padiatr.* 222(3): 158-163.
- [36] Bischoff M. 2013. Tonsillektomie: Die Indikation wird heute strenger gestellt. *Deutsches Ärzteblatt.* 110 (22): 1098.