

Diplomarbeit

**Idiopathische Thrombozytopenie (ITP) –
Fallstudie einer 48jährigen Patientin**

Gerinnung und Thrombozytenaggregation bei ITP

eingereicht von

Johanna Elisabeth Grabher

Mat.Nr.: 0111653

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Institut für Physiologie

unter der Anleitung von

ao. Univ. Prof. Dr. phil. Anna Gries

Graz, am

(Unterschrift)

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

(Unterschrift)

Für Romana

Danksagungen

An erster Stelle möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin, ao. Univ.-Prof. Dr. Anna Gries für die Bereitstellung des Themas sowie für die hervorragende Betreuung bedanken. Ganz besonders möchte ich auch bei ihrem Chemotechniker Ing. Josef Keller danken für die Hilfe bei den Laborversuchen und seine moralische Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt meinen beiden Aggregations – ProbandInnen, sowie auch allen anderen Probanden für ihre Teilnahme an der Studie, für die Zeit, die sie investiert haben, und vor allem für ihre Unterstützung.

Weiters möchte ich mich bei meinem Lebensgefährten Gerald und ganz besonders bei meinen Freunden Moni, Patrick, Ralf, Anina und Tesi bedanken für ihre fachliche, moralische und alle sonstige Hilfe.

Außerdem danke ich meinen Eltern Andrea und Rainer sowie meinen Schwestern Eva, Lisbeth und Astrid für jegliche ihnen mögliche Unterstützung während der ganzen Zeit.

Und ganz besonders möchte ich noch all meinen ArbeitskollegInnen und unserem Chef in der Bar i_KU Graz Dank sagen, welche mich immer dabei unterstützt haben, Arbeit und Studium neben- und miteinander zu bewältigen.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	VI
Abstract	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	IX
Tabellenverzeichnis	XI
1 Einleitung	1
2 Grundlagen	3
2.1 Die Rolle der Thrombozyten in der Blutgerinnung	3
2.1.1 Thrombozyten – Aufbau	3
2.1.2 Thrombozyten – Aktivierung	4
2.1.3 Thrombozyten – Adhäsion	5
2.1.4 Thrombozyten – Aggregation	5
2.2 Idiopathische Thrombozytopenische Purpura (ITP)	7
2.2.1 Definition	7
2.2.2 Pathophysiologie	8
2.2.3 Einteilung	10
2.2.4 Symptomatik	10
2.2.5 Diagnostik	11
2.2.6 Therapie der chronischen ITP	12
2.2.7 Schwangerschaft mit ITP	13
2.2.8 Neonatale Autoimmunthrombozytopenie	14
2.3 Auswirkungen auf die Lebensqualität von ITP PatientInnen.....	14
2.3.1 HRQoL Konzept	14
2.3.2 HRQoL Bereiche	15
3 Leben mit ITP – Fallbeschreibung einer 48jährigen Patientin mit ITP	18
4 Methoden	22
4.1 Blutabnahme	22
4.2 Herstellung von plättchenreichem Plasma (PRP)	22
4.3 Herstellung von „platelet poor plasma“ (PPP)	22

4.4 Thrombozyten-Aggregometrie	22
4.5 Berechnungen	26
4.6 Reagenzien	26
4.7 Aufkonzentrierung von plättchenreichem Plasma	27
4.7.1 Aufkonzentrierung nach Aviram et al.	27
4.7.2 Aufkonzentrierung modifiziert nach Heyns et al.	27
4.8 Probanden	28
4.9 Fallbeschreibung	28
5 Ergebnisse	29
5.1 Aufkonzentrierung von plättchenreichem Plasma	29
5.2 Vorbereitungen der Blutproben von ITP-Patientin und gesunder Probandin	31
5.2.1 Blutprobe ITP-Patientin	31
5.2.2 Blutprobe gesunde Probandin	32
5.3 Aggregometrie mit und ohne Aufkonzentrierungsverfahren	32
5.3.1 Aggregationskurven nach Zugabe von 10 µl ADP	33
5.3.2 Aggregationskurven nach Zugabe von 10 µl Kollagen	34
5.4 Aggregometrie bei ITP Patientin und Probandin	35
5.4.1 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 10 µl ADP	36
5.4.2 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 20 µl ADP	37
5.4.3 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 10 µl Kollagen	38
5.4.4 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 20 µl Kollagen	39
6 Diskussion	40
7 Literaturverzeichnis	44
8 Anhang	47
8.1 Studienprotokoll	47
8.2 Einwilligungserklärung	52

Zusammenfassung

Grundlagen: Idiopathische thrombozytopenische Purpura (ITP) ist eine Autoimmunerkrankung, welche mit einer Thrombozytopenie durch verfrühten Abbau der Thrombozyten einhergeht. Trotz Thrombozytenwerten $< 10\,000 / \mu\text{l}$ sind bei der hier untersuchten ITP-Patientin nie ernsthafte Blutungskomplikationen aufgetreten. Ihre Thrombozytenfunktion zu untersuchen wurde dadurch erschwert, dass für eine verwertbare Aggregometriemessung ein Thrombozytenwert von $> 150\,000 / \mu\text{l}$ notwendig ist.

Methoden: Es wurden zuerst zwei verschiedene Methoden zur Anreicherung von Thrombozyten miteinander verglichen. Beide Male wurde das aus Citratblut gewonnen plättchenreiches Plasma nochmalig zentrifugiert und danach die Thrombozyten im Plasma resuspendiert. In der zweiten und in weiterer Folge verwendeten Methode wurden die Zentrifugalaröhrchen zuvor mit Rinderalbumin gecoatet. Für die Aggregometrie wurde die Lichttransmissionsmessung nach Born benutzt. Dabei wurde einerseits bei derselben Probandin ein Vergleich der Thrombozytenfunktion mit und ohne Aufkonzentrierung durchgeführt, und andererseits die Thrombozytenfunktion der ITP-Patientin mit der einer gesunden Probandin verglichen.

Ergebnisse: Durch die Beschichtung der Röhrchen mit Rinderalbumin konnte eine größere Ausbeute an Thrombozyten erzielt werden. Jedoch kam es durch die Aufkonzentrierung zu einer Reduktion der Aggregationsgeschwindigkeit und der Maximalaggregation der Thrombozyten. Im Vergleich der ITP-Patientin mit der gesunden Probandin zeigte sich, selbst nach rechnerischem Ausgleich der Veränderungen durch die Aufkonzentrierung, eine verminderte Funktion der Thrombozyten bei der ITP-Patientin.

Diskussion: Die Annahme, dass das geringe Blutungsrisiko bei der ITP-Patientin auf einer besseren Funktion der Thrombozyten beruht, bestätigte sich nur bedingt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei der ITP-Patientin zwar die Reaktionszeit kürzer, jedoch insgesamt die Maximalaggregation und Geschwindigkeit geringer war. Dies deutet auf eine Thrombozytenfunktionsstörung bei der ITP-Patientin hin. Der Grund für das geringe Blutungsrisiko liegt wahrscheinlich in einem anderen Teil des Gerinnungssystems. Daraus wird ersichtlich, wie wichtig das klinische Erscheinungsbild und nicht Laborwerte für die Betreuung von ITP-PatientInnen ist.

Abstract

'Idiopathic Thrombocytopenic Purpura - A case-report of a female 48-year-old patient Coagulation and aggregation with ITP'

Background: Idiopathic thrombocytopenic purpura is an autoimmune disease, which manifests itself in thrombocytopenia caused by early reduction of thrombocytes. Despite of concentrations of thrombocytes $< 10\ 000 / \mu\text{l}$ our ITP patient never suffered from any serious bleeding complications. A closer examination of her platelet function was complicated by the fact that a platelet count $> 150\ 000 / \mu\text{l}$ is necessary for the investigation of platelet function.

Methods: First, we used two different methods to increase the platelet concentration and compared them with each other. In both methods platelet-rich-plasma was centrifuged twice and the remaining thrombocytes were resuspended in plasma. The method using BSA-coated centrifuges tubes was performed during the hole procedure. Aggregometry was measured by light-transmission, a method developed by Born. First we compared the aggregation of thrombocytes with and without increasing the concentration of thrombocytes. Then we compared the aggregation of our ITP-patient and a healthy woman of the same age.

Results: The method using BSA-coated tubes showed better results in increasing the concentration of thrombocytes and was used during the whole procedure. Because of increasing the concentration, a decrease in the maximum of aggregation occurred. The comparison between ITP patient and healthy control showed that, there was a lower function of the thrombocytes of the ITP patient, even after normalization of the data.

Discussion: Our hypotheses based on the assumption, that a better function of the thrombocytes was the reason for the low bleeding risk of the ITP patient. However the results showed on the one hand a faster reaction time, but on the other hand a lower maximum of aggregation and lower speed. Therefore it can be assumed that there is a loss in the quality function of the ITP patient's thrombocytes. The reason for the low bleeding risk has to be found in another part of the coagulation system. Thus it appears that the clinical appearance is much more important than laboratory data for the treatment of ITP patients.

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosin-Di-Phosphat
ASS	Acetylsalicylsäure
BB	Blutbild
BSA	Bovines Serumalbumin
GP	Glykoprotein
Hct	Hämatokrit
HRQoL	Health Related Quality of Life
KG	Körpergewicht
Koll.	Kollagen
ITP	Idiopathisch Thrombozytopenische Purpura
LTA	Licht-Transmissions-Aggregometrie
Max.	Maximal
MPV	Mittleres Plättchen Volumen
PPP	Platelet Poor Plasma (Plättchen armes Plasma)
PRP	Platelet Rich Plasma (Plättchen reiches Plasma)
RBC	Red Blood Cells (Erythrozyten)
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
RGD	Sequenz aus den Aminosäuren Arginin, Glycin und Asparaginsäure
TZ	Thrombozyten
WBC	White Blood Cells (Leukozyten)

Abbildungsverzeichnis

[Abb. 1]	Ruhender und aktivierter Thrombozyt	3
[Abb. 2]	Schema der TZ Adhäsion und Aggregation	5
[Abb. 3]	Wege der TZ-Aggregation	6
[Abb. 4]	Ursachen und Symptome der hämorrhagischen Diathesen	7
[Abb. 5]	Knochenmark bei ITP	9
[Abb. 6]	Petechien	10
[Abb. 7]	Petechien	10
[Abb. 8]	Tabelle für Indikationen einer TZ-Transfusion	12
[Abb. 9]	Konzeptmodell für HRQoL bei ITP-PatientInnen.....	15
[Abb. 10]	Schematische Darstellung der LTA-Messmethode	23
[Abb. 11]	Aufbau eines Aggregometers	24
[Abb. 12]	Messküvetten mit PRP und nach der Aggregation	24
[Abb. 13]	Schema der Aggregationskurven-Auswertung	25
[Abb. 14]	Thrombozyten-Histogramm vor der Aufkonzentrierung	30
[Abb. 15]	Thrombozyten-Histogramm nach der Aufkonzentrierung	30
[Abb. 16]	Aggregometrie ohne Aufkonzentrierung, 10 µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l	33
[Abb. 17]	Aggregometrie mit Aufkonzentrierung, 10 µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l	33
[Abb. 18]	Aggregometrie ohne Aufkonzentrierung, 10 µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml	34
[Abb. 19]	Aggregometrie mit Aufkonzentrierung, 10 µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml	34
[Abb. 20]	Aggregometrie ITP-Patientin, 10µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l	36
[Abb. 21]	Aggregometrie gesunde Probandin, 10µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l	36
[Abb. 22]	Aggregometrie ITP-Patientin, 20µl ADP, Endkonzentration 20 µmol/l	37
[Abb. 23]	Aggregometrie gesunde Probandin, 20µl ADP, Endkonzentration 20 µmol/l	37
[Abb. 24]	Aggregometrie ITP-Patientin, 10µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml	38
[Abb. 25]	Aggregometrie gesunde Probandin, 10µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml	38

[Abb. 26]	Aggregometrie ITP-Patientin, 20µl Kollagen, Endkonzentration 7,7 µg/ml	39
[Abb. 27]	Aggregometrie gesunde Probandin, 20µl Kollagen, Endkonzentration 7,7 µg/ml	39

Tabellenverzeichnis

[Tabelle 1]	Thrombozytenzahlen und Blutungsneigung	11
[Tabelle 2]	Blutprobe für den Vergleich beider Aufkonzentrierungsmethoden	29
[Tabelle 3]	Vergleich der Aufkonzentrierung mit BSA gecoatet bzw. ohne BSA	30
[Tabelle 4]	BB und PRP der ITP-Patientin	31
[Tabelle 5]	BB und PRP der gesunden Probandin	32
[Tabelle 6]	Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl ADP	33
[Tabelle 7]	Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl Kollagen	34
[Tabelle 8]	Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 10 µl ADP	36
[Tabelle 9]	Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 20 µl ADP	37
[Tabelle 10]	Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 10 µl Kollagen	38
[Tabelle 11]	Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 20 µl Kollagen	39

1 Einleitung

Idiopathisch thrombozytopenische Purpura (ITP) ist eine Autoimmunerkrankung, welche mit einer ausgeprägten Thrombozytopenie durch verfrühten Abbau der Thrombozyten (TZ) einhergeht. Die TZ-Überlebenszeit ist stark verkürzt, oft auf wenige Stunden (Normale Lebensdauer der TZ: 9 – 10 Tage) [Herold & Mitarbeiter, 2007]. Die individuelle TZ-Konzentration schwankt bei den Betroffenen zwischen 5 000 – 100 000 / μl [Greten, 2005].

Eine Thrombozytopenie ist definiert als eine TZ-Konzentration $< 150\,000 / \mu\text{l}$. Die Fähigkeit, einen Thrombus zu bilden, bleibt aber bis zu einer TZ-Konzentration von $100\,000 / \mu\text{l}$ erhalten [Marino, 2008].

Das spontane Blutungsrisiko tritt erst bei einer Konzentration $< 10\,000 / \mu\text{l}$ auf [Kretschmer et al., 2008]. Bei nicht Vorhandensein einer strukturellen Läsion können auch Werte bis $< 5\,000 / \mu\text{l}$ toleriert werden [Marino, 2008]. Für kleinere operative Eingriffe sollte eine Konzentration zwischen $20\,000 - 30\,000 / \mu\text{l}$ erreicht werden, für größere operative Eingriffe sollte die Konzentration nicht $< 50\,000 / \mu\text{l}$ fallen. Bei ITP-PatientInnen gelangen jedoch vermehrt TZ aus dem Knochenmark in die Zirkulation, sodass das Blutungsrisiko geringer ist, als es die gemessenen TZ-Konzentrationen erwarten lassen würden [Kretschmer et al., 2008].

Dieser Umstand sowie die Tatsache, dass in dem folgend behandelten Fallbeispiel, trotz häufigen TZ-Werten $< 10\,000 / \mu\text{l}$, nie ernsthafte Blutungskomplikationen auftraten, bilden die Grundlage dieser Arbeit. Ziel ist die Messung der TZ-Aggregation mittels Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) bei dieser Patientin. Im Vorfeld musste jedoch erst ein geeignetes Verfahren gefunden werden, welches überhaupt eine Aggregometrie bei so geringen TZ-Werten ermöglicht, da für eine verwertbare Aggregationskurve mittels LTA eine TZ-Konzentration von mindestens $150\,000 / \mu\text{l}$ notwendig ist [Logos Laborgeräte GmbH, 1983].

Das hier beschriebene Fallbeispiel einer Patientin mit ITP seit ihrem 25. Lebensjahr ist in vielerlei Hinsicht interessant. Zum einen lagen die

gemessenen TZ-Konzentrationen ohne Therapie nie höher als 40 000 / μl und seit der Diagnose 1986 traten keine ernsthaften Blutungskomplikationen auf. Insbesondere die beiden Schwangerschaften der Patientin während ihrer ITP-Erkrankung sind von Bedeutung, da eine Schwangerschaft bei einer Patientin mit ITP keine Seltenheit ist [Bussel, 1997]. In Anbetracht dessen wurde nicht nur auf die medizinischen Aspekte einer ITP-Erkrankung Rücksicht genommen, sondern auch auf das Erleben und Leben mit der Erkrankung besonderer Wert gelegt.

2 Grundlagen

2.1 Die Rolle der Thrombozyten in der Blutgerinnung

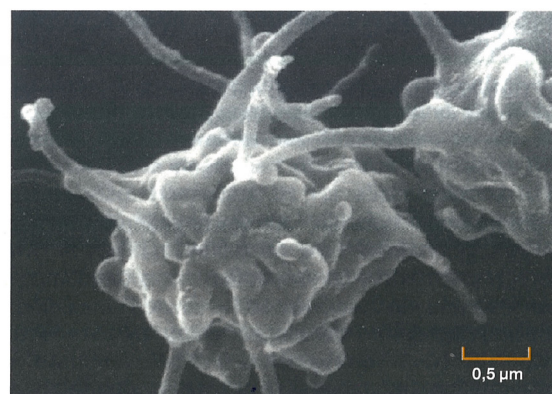
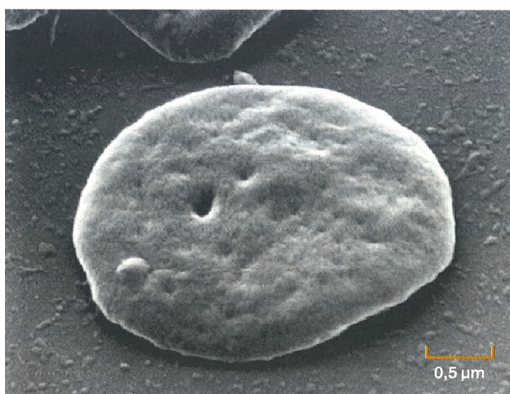
2.1.1 Thrombozyten – Aufbau

Ruhende Thrombozyten (TZ) haben eine diskoide Gestalt. Die Plasmamembran ist eine klassische Doppellipidschicht, welche außen von einer Glykokalix umhüllt ist. Diese enthält Rezeptoren für die Thrombozytenagonisten und –inhibitoren. [Lüllmann-Rauch, 2003]

Innerhalb der Plasmamembran liegt eine Region aus Aktinfilamenten, welche über Filamin mit dem Glykoprotein Ib der Plasmamembran verbunden ist. Diese Verbindungen halten den ruhenden TZ in seiner Form. Wird bei Aktivierung das Filamin gespalten, so runden sich die Plättchen ab („Shape-change“). [Kehrel, 2003]

Sichtbar wird dies in den Aggregationskurven einer LTA, wenn die Lichtdurchlässigkeit erst abnimmt und dann durch die Aggregatbildung wieder zunimmt (siehe Kapitel 5).

Die Plasmamembran zeigt einige Invaginationen, die das offene Kanalsystem bilden. Bei Formwandlung der TZ wird dieses Kanalsystem als Membranreservoir genutzt. Bei Aktivierung formiert sich außerdem ein kontraktiles Gel, welches sich kontrahiert und Zellorganellen zentral zusammenlagert. [Kehrel, 2003]



[Abb. 1] ruhender und aktivierter Thrombozyt [Klinke & Silbernagl, 2003]

2.1.2 Thrombozyten – Aktivierung

Die Aktivierung von TZ erfolgt durch Kontakt mit der verletzten Gefäßwand. An der Stelle, wo die subendotheliale Matrix freigelegt ist, findet eine primäre Adhäsion statt. Dabei erkennen die TZ die Adhäsionsproteine in dem freigelegten Subendothel und bedecken die Gefäßverletzung. Durch Bindung eines Agonisten an den korrespondierenden Rezeptor wird der TZ aktiviert. [Kehrel, 2003]

Die wichtigsten Agonisten und Stimuli sind [Lüllmann-Rauch, 2003]:
Thrombin, Kollagen, ADP, Thromboxan A2, Adrenalin, Matrix-Metalloprotease 2, Serotonin, Immunkomplexe, Komplementfaktoren, Vasopressin, Plasmin, gewebsspezifischer Plasminogenaktivator und Streptokinase.

Die TZ - Aktivierung ist assoziiert mit:

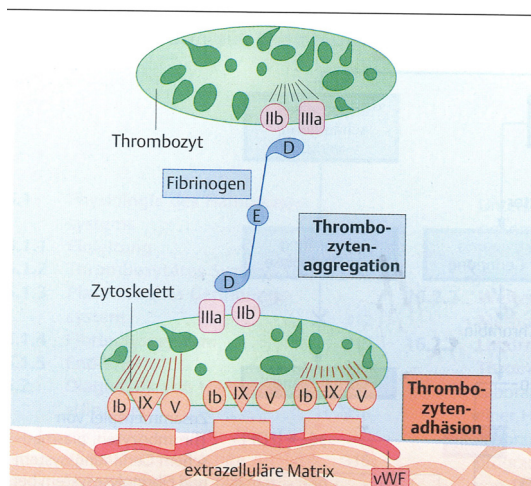
- Stimulierung von verschiedenen Stoffwechselwegen, welche zu einer Vasokonstriktion führen und chemotaktisch sowie aktivierend auf Phagozyten wirken [Klinke & Silbernagl, 2003]
- Freisetzung von Serotonin, ADP und Thromboxan A2 aus dem TZ [Kehrel, 2003]
- Formwandlung der TZ, Shape-change [Kehrel, 2003]
- Aktivierung von Glykoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) [Kehrel, 2003]
- Induktion des prokoagulatorischen Zustandes [Kehrel, 2003]
- Aktivierung von Phospholipase C und Freisetzung von Inositolphosphat mit nachfolgender Ca^{2+} -vermittelter Umwandlung von globulärem in fibrilläres Aktin [Klinke & Silbernagl, 2003]

Die Formwandlung („Shape-change“) ist keine Voraussetzung für die Aggregation. Der erste Kontakt zwischen TZ über eine Fibrinogenbrücke erfolgt zwischen diskoiden TZ. Unter Blutflussbedingungen bei hohen Scherkräften (z.B. arteriosklerotisch veränderte Gefäße) erfolgt eine Aktivierung und Aggregation durch diese Scherkräfte. In diesem Fall stellt der vWF die vermittelnde Brücke dar. [Kehrel, 2003]

2.1.3 Thrombozyten – Adhäsion

Während des initialen Kontaktes des TZ mit der verletzten Gefäßwand bindet der GP-Ib/V/IX-Komplex (GP Ib/V/IX) an den von-Willebrand-Faktor (vWF). Der vWF ist auf der subendothelialen Oberfläche mit Kollagen assoziiert. Diese Verbindungen bremsen die TZ, halten sie an der Oberfläche fest und starten den Aktivierungsprozess. [Klinke & Silbernagl, 2003]

Die Bindung des GP-Ib/V/IX-Komplexes an den vWF kann durch das Einwirken von erhöhtem Scherstress, wie er in arteriosklerotisch verengten Kapillaren vorkommt, ausgelöst werden [Kehrel, 2003]. Die Adhäsion an Kollagen, dem Hauptprotein der subendothelialen Matrix, erfolgt direkt über das GP Ia/IIa an Kollagenfasern [Lüllmann-Rauch, 2003].



[Abb. 2] Schema der TZ Adhäsion und Aggregation (D und E sind die Domänen des Fibrinogenmoleküls) [Klinke & Silbernagl, 2003]

2.1.4 Thrombozyten – Aggregation

Die Bindung von TZ untereinander erfolgt über das GP IIb/IIIa und Fibrinogen. Der GP IIb/IIIa Komplex kann ebenso an den vWF binden. Bei einem nicht aktivierten TZ sind ca. 50 % seiner Oberfläche mit diesem GP besetzt. GP IIb/IIIa dient als Bindungspartner für Fibrinogen, vWF, Fibronectin, Vitronectin und Thrombospondin. GP IIb/IIIa ist essentiell für die normale Aggregation, indem es über Fibrinogenbrücken die TZ zusammenhält und aktivierte TZ an das subendotheliale Gewebe bindet. [Kehrel, 2003]

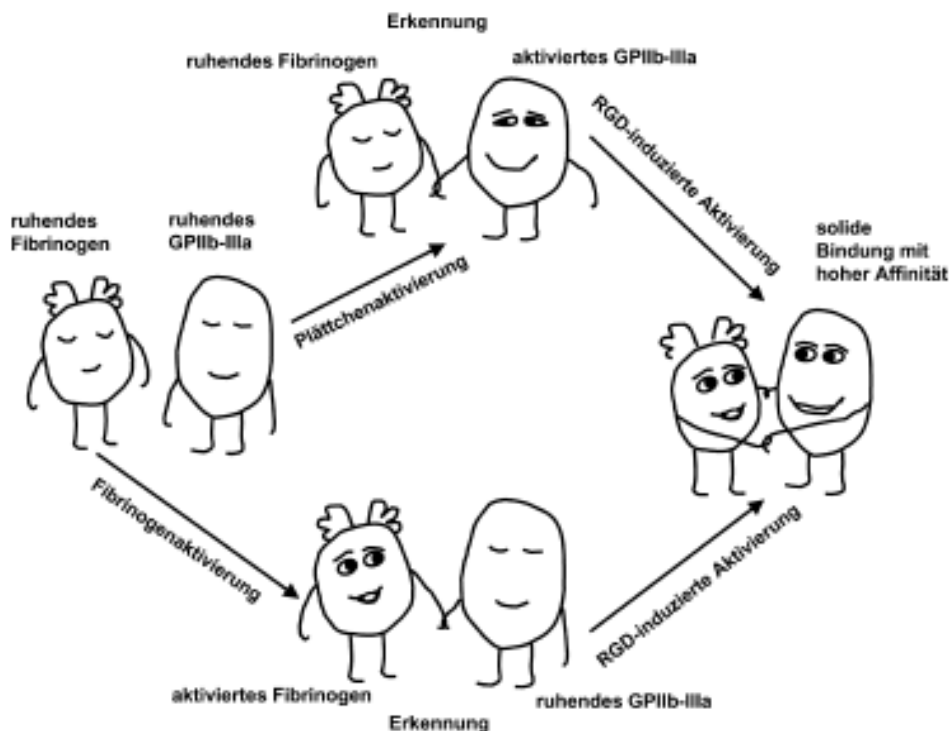
Im nicht aktivierten Zustand sind diese GP-Komplexe nicht in der Lage lösliches Fibrinogen zu binden. Jedoch kann GP IIb/IIIa auf nicht aktivierten TZ an

immobilisiertes Fibrinogen binden, wie es an verletzten Gefäßwänden vorkommt. Dadurch werden diese TZ aktiviert und aggregieren schließlich selbst. [Klinke & Silbernagl, 2003]

Nach Aktivierung der TZ durch Kollagen, Thrombin oder einen anderen Plättchenaktivator vermag der GP IIb/IIIa Komplex lösliches Fibrinogen zu binden. Dies führt über Konformitätsänderungen beider Partner zu einer stabilen Verbindung. Die TZ binden an ihrer Oberfläche Fibrinogen und andere bisher ruhende TZ können an dieses Fibrinogen binden und werden dadurch aktiviert. [Kehrel, 2003]

Die Aktivierung wird induziert über die RGD-Sequenz, welche aus den drei Aminosäuren Arginin, Glycin und Asparaginsäure besteht. Die RGD-Sequenz kommt besonders in Proteinen der extrazellulären Matrix (Fibronectin, Vitronectin) vor. Zellen können mit bestimmten Oberflächenrezeptoren, den Integrinen, an die RGD-Sequenz binden. Die RGD-vermittelte Zelladhäsion dient zur mechanischen Verankerung von Zellen. [Siegenthaler & Blum, 2006]

Schematische Darstellung der TZ-Aktivierung und Aggregation: [Kehrel, 2003]



[Abb. 3] Wege der TZ-Aggregation

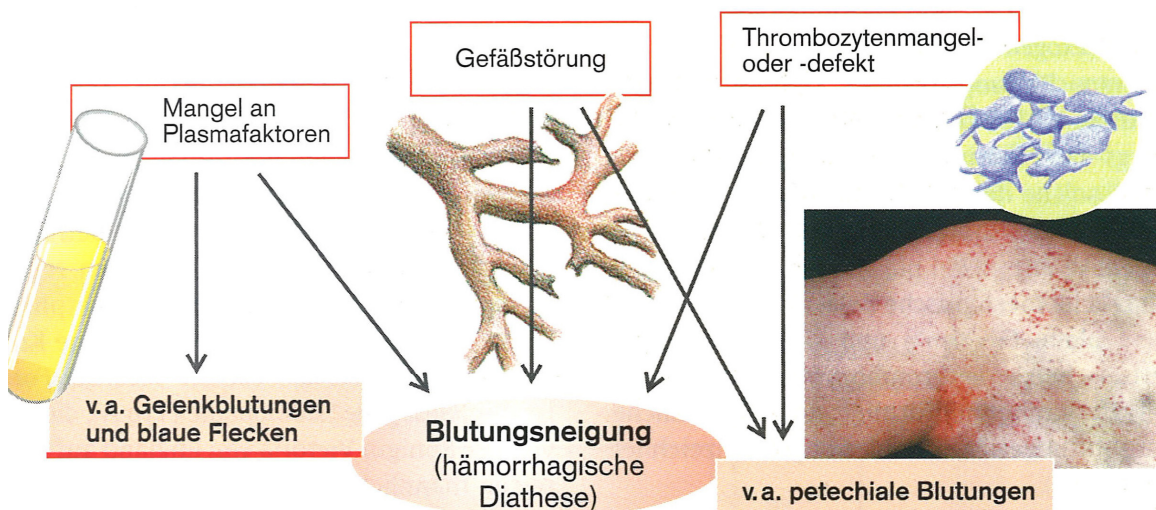
Die GP IIb/IIIa-Moleküle bilden auf der TZ-Oberfläche Cluster, binden Fibrinogen und weitere, bisher ruhende TZ können an diese dicht gepackten immobilisierten Fibrinmoleküle binden. Die Aktivierung der TZ wird begleitet von einer Konformitätsänderung im GP IIb/IIIa-Komplex, welche für die Aktivierung des Komplexes notwendig ist. Der zytoplasmatische Abschnitt des GP IIIa wird am Tyrosin phosphoryliert. Ein Verändern von Disulfidbrücken im GP IIb/IIIa durch die Proteindisulfid-Isomerase bewirkt eine hoch affine Bindung zwischen Fibrinogen und dem Komplex. [Kehrel, 2003]

2.2 Idiopathisch Thrombozytopenische Purpura (ITP)

2.2.1 Definition

Idiopathisch thrombozytopenische Purpura (ITP) wird auch bezeichnet als Autoimmunthrombozytopenische Purpura bzw. Morbus Werlhof. Die ITP gehört zu den primären hämorrhagischen Diathesen und hier zur Untergruppe der thrombozytär bedingten primären hämorrhagischen Diathesen. Hämorrhagische Diathesen können unter anderem durch eine Verminderung der Thrombozytenzahlen sowie durch eine Thrombozytenfunktionsstörung bedingt sein. Beide Formen treten sowohl erworben als auch vererbt auf. [Greten, 2005]

Ursachen und Symptome von hämorrhagischen Diathesen: [Silbernagl & Lang, 2005]



[Abb. 4] Ursachen und Symptome von hämorrhagischen Diathesen

Thrombozytopenien entstehen entweder durch den vermehrten Abbau von Thrombozyten, durch eine Synthesestörung oder durch ein verändertes Verteilungsvolumen. [Greten, 2005]

Die Inzidenz der akuten ITP liegt etwa bei 6/10 000/Jahr, für die chronische ITP existieren keine gesicherten Zahlenangaben. [Scharf, 2003]

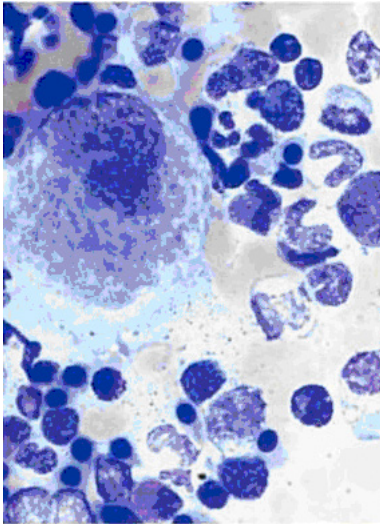
2.2.2 Pathophysiologie

Die ITP gehört in die Gruppe der Thrombozytopenien, die durch einen vermehrten Abbau von Thrombozyten entstehen. Der beschleunigte Abbau wird durch Autoantikörper induziert. Die Autoantikörper richten sich vor allem gegen die Thrombozyten-Glykoprotein-Komplexe GP IIb/IIIa (Fibrinogenrezeptor), GP Ib/IX/V (Von-Willebrand-Faktor-Rezeptor) bzw. GP Ia/IIa (Kollagenrezeptor). In 95 % der Fälle sind IgG Antikörper und in 25 % IgM Antikörper nachweisbar. [Greten, 2005]

Der Autoantikörperbildung liegt wahrscheinlich eine gestörte Interaktion von T-Helfer Zellen mit antigenpräsentierenden Zellen zugrunde. [Siegenthaler & Blum, 2006]

Die Besetzung der Thrombozytenrezeptoren durch Autoantikörper führt zu einer vermehrten Fc-Rezeptor-vermittelten Phagozytose der Thrombozyten im Monozyten-Makrophagen-System. Die Thrombozytenüberlebenszeit ist auf wenige Tage bis Stunden verkürzt. Die Thrombozytenfunktion ist normal bis gesteigert. Der Thrombopoetinspiegel ist normal bis erhöht, eventuell spielt auch ein endogener Thrombopoetinmangel eine pathophysiologische Rolle. [Greten, 2005]

Im Blutausstrich fällt auf, dass gehäuft größere, das bedeutet jüngere Formen vorliegen. Das Knochenmark weist eine normale bis gesteigerte Megakaryozytenzahl auf. Auch hier fällt eine Vermehrung der jüngeren Formen mit bis zu zwei Kernen auf. [Theml et al., 2002]



[Abb. 5] Knochenmark bei ITP: Einkerniger, „jugendlicher“ Megakaryozyt mit deutlicher Thrombozytenproduktion (unruhig wolkige Zytoplasmastruktur) [Theml et al., 2002]

2.2.3 Einteilung

Entscheidend für Prognose und Therapie ist die Unterscheidung zwischen akuter und chronischer ITP. Dauert die Thrombozytopenie länger als 6 Monate an, muss von einer chronischen ITP ausgegangen werden. [Herold & Mitarbeiter, 2007]

- Akute ITP

Die akute ITP hat die höchste Inzidenz im Alter von 2 – 5 Jahren und ist in 60 % der Fälle durch virale Infektionen bedingt. Die Letalität beträgt 1-2%. [Greten, 2005]

Es treten Autoantikörper infolge von viralen Infekten (Röteln, Varizellen, Mumps, Mononukleose [Kehrel, 2003]) auf und verschwinden in der Regel spontan wieder [Greten, 2005].

- Chronische ITP

Die chronische ITP tritt im Erwachsenenalter bei Frauen häufiger als bei Männern, im Verhältnis 3:1, auf [Herold & Mitarbeiter, 2007]. Bisher ist die Ursache für die Bildung der Autoantikörper unbekannt, jedoch tritt die chronische ITP häufig mit

anderen Autoimmunerkrankungen, wie dem Systemischen Lupus Erythematosus und der Coombs-positiven hämolytischen Anämie auf. Ebenso tritt die ITP in 4-6% der Fälle mit malignen Erkrankungen, zumeist Non-Hodgkin Lymphomen auf. Die Letalität beträgt ca. 6 %. [Greten, 2005]

2.2.4 Symptomatik

Typisch sind stecknadel- bis linsengroße (der Durchmesser einer Linse beträgt maximal 7 mm [Wikipedia, 2010]) petechiale Blutungen. Diese treten an der Haut, den Schleimhäuten und an den inneren Oberflächen (z.B. Darm oder Gehirn) auf. [Greten, 2005]



[Abb. 6] Petechien



Abb. 7] Petechien

Weiters treten Epistaxis, Gastrointestinal- und Urogenitalblutungen und Hypermenorrhoe auf. Ebenfalls entstehen Hämatome bereits nach leichten Verletzungen. [Siegenthaler & Blum, 2006]

Gelenksblutungen sind nicht typisch für Thrombozytopenien sondern für eine Verminderung der Gerinnungsfaktoren. [Scharf, 2003]

Spontane Blutungen werden meist erst ab einer Thrombozytenzahl $< 10\,000 / \mu\text{l}$ beobachtet. 25 – 50 % der PatientInnen mit diesen niedrigen Thrombozytenzahlen weisen intrakranielle Blutungen auf. [Greten, 2005]

Die Blutungsneigung entspricht dem Ausmaß der Thrombozytenverminderung:
[Scharf, 2003]

Thrombozytenzahlen K/ μ l	klinische Manifestation
> 100	keine Blutungsneigung
50 – 100	Verstärkte Blutungen bei Verletzungen
30 – 50	Verstärkte Hautblutungen bei Mikrotraumen (Hämatome), diskrete petechiale Blutungen an prädisponierten Körperpartien
< 30	zunehmend Spontanblutungen, Petechien am ganzen Körper, Haut- und Schleimhautblutungen, Gefahr zerebraler und intestinaler Blutungen

[Tabelle 1] Thrombozytenzahlen und Blutungsneigung

Jedoch wirken auch höheres Lebensalter und Thrombozytenfunktionsstörungen (z.B. durch die Einnahme von ASS) verstärkend auf die Blutungsneigung. Ebenso zeigen sich Unterschiede in der Blutungsneigung im Bezug auf die Ursache der Thrombozytopenie. Thrombozytopenien bedingt durch eine Bildungsstörung weisen eine stärkere Blutungsneigung auf als Thrombozytopenien bedingt durch eine erhöhte periphere Destruktion. [Scharf, 2003]

2.2.5 Diagnostik

Bei einer isolierten Thrombozytopenie sollte immer an eine ITP gedacht werden. Jedoch sollte auf jeden Fall eine Pseudothrombozytopenie ausgeschlossen werden. Zu einer Pseudothrombozytopenie kommt es, wenn es bei der Zählung der TZ im EDTA-Blut zu einer Thrombozytenaggregatbildung kommt, was eine Thrombozytopenie vortäuscht, da diese Aggregate in der Zählung nicht erfasst werden. Zeigt sich im EDTA-Blut eine Thrombozytopenie, sollte die Zählung immer im frischen Citrat-Blut wiederholt werden. [Greten, 2005]

Die Thrombozytenzahlen können zwischen 5 000 bis 100 000 / μ l schwanken. In nur ca. 50 % der Fälle können Autoantikörper gegen Thrombozyten-Glykoprotein-Komplexe GP IIb/IIIa, GP Ib/IX/V bzw. GP Ia/IIa nachgewiesen werden. [Greten, 2005]

2.2.6 Therapie der chronischen ITP [Scharf, 2003]

Therapieindikationen sind

- Blutungen und / oder
- Thrombozytenzahlen < 30 000 / μ l

Bei fehlender Indikation nur Verlaufskontrolle, Verletzungsprophylaxe und ASS-Verbot.

Primärtherapie bei nicht gefährlich blutenden PatientInnen ist die Gabe von Prednisolon 1-2 mg / kg KG / Tag oral über 2 Wochen oder Dexamethason-Stoßtherapie 40 mg / Tag oral über 4 Tage.

Ziel ist eine Thrombozytenzahl > 30 000 / μ l.

Akuttherapie bei gefährlichen Blutungen oder nicht aufschiebbaren Operationen:

- Immunglobuline 1 – 2 mg/ kg KG verteilt über 2-3 Tage plus Steroidbolus z.B. Methylprednisolon 5-10 mg/kg KG/Tag i.v. über 3 Tage
- Thrombozytentransfusionen nur bei lebensbedrohlichen Blutungen:

Ursache	Erkrankungen/Umwstände	Thrombozyten/ μ l ohne Vorliegen von Risikofaktoren	Thrombozyten/ μ l mit Vorliegen von Risikofaktoren
Bildungsstörung	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aplastische Anämie ▪ Myelodysplasie ▪ Hereditäre Thrombozytopenie 	≤ 5000	≤ 10.000
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Akute Leukämie ▪ Stammzelltransplantation ▪ Solide Malignome 	≤ 10.000	≤ 20.000
Umsatzsteigerung	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Morbus Werlhof ▪ Hämolytisch-urämisches Syndrom ▪ Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura ▪ Disseminierte intravasale Gerinnung ▪ Heparininduzierte Thrombozytopenie Typ 2 	Keine Indikation	Bei lebensbedrohlicher Blutung

[Abb. 8] Tabelle für Indikationen einer TZ-Transfusion [Kretschmer et al., 2008]

Eine Sekundärtherapie ist nur in Betracht zu ziehen, wenn die Thrombozytopenie nicht oder nur kurzfristig auf Prednisolon anspricht, die Wirkung zeigende

Steroiddosis über der Cushing-Schwelle liegt oder nach mehr als einem Rezidiv nach zunächst erfolgreicher Primärtherapie.

Zu den Sekundärtherapieoptionen zählen

- Splenektomie
- Dexamethason alle 4 Wochen wiederholen (insgesamt 4 – 6 Zyklen)
- CD20-Antagonist Rituximab 375 mg / m² KO 1 x pro Woche für 4 Wochen
- zytostatisch wirksame Immunsuppressiva: Azathioprin und Cyclophosphamid
- Cyclosporin, Mycophenolat Mofetil, Danazol, Kombinationstherapie analog zum NHL Schema.

Zusätzlich sollte eine supportive Therapie angewandt werden.

- Wenn Helicobacter pylori nachweisbar ist, sollte dieser eradiziert werden.
- Zur Prophylaxe von starken Menstruationsblutungen kann Norethisteronacetat (Wirkstoff der sogenannte „Minipille“, wirkt über Atrophie und vorzeitige deziduale Stromaveränderung des Endometriums [Schmidt-Matthiesen, 2005]) verabreicht werden.
- Keine Thrombozytenaggregationshemmer verabreichen.
- Gegen Blutungen der Schleimhäute von Mund und Nase wirkt Fibrinolysehemmung mittels Tranexamsäure 20-25 mg/kg KG alle 8 h oral

2.2.7 Schwangerschaft mit ITP

Zu den signifikant höheren Risiken einer Schwangerschaft mit ITP im Gegensatz zu einer Schwangerschaft ohne ITP zählen Hypertonie, Diabetes mellitus und Frühgeburten (Geburt vor der 34. SSW). Insbesondere das Risiko für eine Frühgeburt ist signifikant erhöht. Auch in Anbetracht anderer Risikofaktoren wie fetale Fehlbildungen, Hypertonie, Diabetes mellitus und erhöhtes Alter der Mutter stellte sich ITP als unabhängiger Risikofaktor heraus. Auch die Wahrscheinlichkeit für eine perinatale Sterblichkeit ist signifikant erhöht. [Marti-Carvajal et al., 2009]

Schwangerschaft einer Patientin mit ITP ist keine Seltenheit, mindestens eine von 10 000 Schwangerschaften [Bolton-Maggs, 2000]. In den letzten 20 Jahren kam es zu keinem mütterlichen Todesfall während der Geburt oder Schwangerschaft.

Die Behandlung während der Schwangerschaft unterscheidet sich nicht von der Behandlung ohne Schwangerschaft. Von einer ersten Geburt während der Erkrankung der Mutter kann auch auf den Verlauf der weiteren Geburten geschlossen werden. [Belkin et al., 2009]

2.2.8 Neonatale Autoimmunthrombozytopenie

Die Neonatale Autoimmunthrombozytopenie tritt auf, wenn die Antikörper der Mutter durch die Plazenta auf das Kind übertragen werden. [Bolton-Maggs, 2000] Signifikante Thrombozytopenien bei Neugeborenen einer Mutter mit ITP treten in 10 % der Fälle auf. [Belkin et al., 2009]

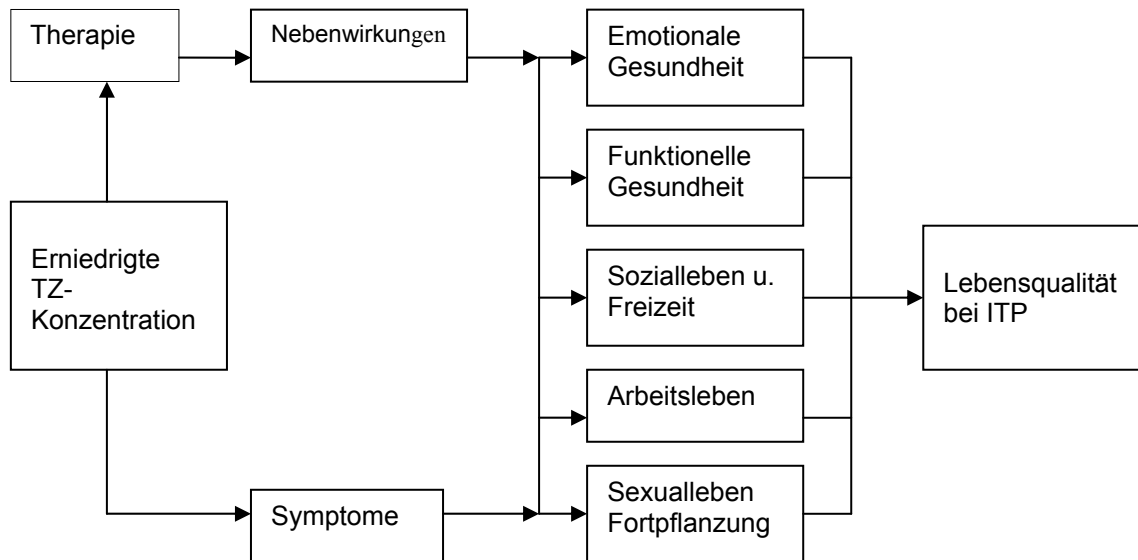
Die Symptome umfassen Petechien und Hämatome vor allem an mechanisch belasteten Stellen, insgesamt sind die Symptome relativ gering ausgeprägt. Insbesondere intrakranielle Blutungen sind selten. Bei stärkeren postnatalen Blutungen ist die Behandlung mit Steroiden und Immunglobulinen beschrieben, es existieren aber keine kontrollierten Studien. [Obladen & Maier, 2006]

2.3 Auswirkungen auf die Lebensqualität von ITP-PatientInnen

2.3.1 HRQoL Konzept [Mathias et al., 2008]

Ein Konzept für die Bestimmung der gesundheitsbezogenen Lebensqualität (HRQoL – Health-Related Quality of Life) von ITP-PatientInnen stammt von Mathias et al. aus dem Jahr 2008. Darin wurden mittels Literatursuche und Befragungen von ITP-Betroffenen die häufigsten Probleme und ihre Auswirkungen auf ihre Lebensqualität beschrieben. Nach diesem Konzept wird die HRQoL beeinflusst von der niedrigen TZ-Konzentration, den Symptomen der Erkrankung selbst und den Nebenwirkungen einer Therapie. Dabei wurden die Auswirkungen auf die Lebensqualität erfragt und in die HRQoL-Bereiche emotionale und funktionelle Gesundheit, Arbeitsleben, Sozialleben und Freizeit, und Sexualleben und Fortpflanzung unterteilt.

Schematische Darstellung des Konzeptmodells bei ITP-PatientInnen (Auf die einzelnen Bereiche wird im nächsten Kapitel näher eingegangen):



[Abb. 9] Konzeptmodell für HRQoL bei ITP-PatientInnen

Zu den wichtigsten Symptomen, welche mit der erniedrigten TZ-Konzentration einhergehen, zählen Hämatome, Blutungen und Abgeschlagenheit. Zu den Nebenwirkungen einer Therapie zählen hauptsächlich die Nebenwirkungen einer Cortisontherapie wie Schlaflosigkeit, Stimmungsschwankungen und Gewichtszunahme. In dem Konzept von Mathias et al. erklärten die meisten PatientInnen, dass die Nebenwirkungen einer Cortisontherapie ihre allgemein bereits verschlechterte Lebensqualität nur noch zusätzlich belasten.

2.3.2 HRQoL Bereiche [Mathias et al., 2008]

- Emotionale Gesundheit:

Insgesamt scheint die emotionale Verfassung eine wichtige Rolle für ITP-PatientInnen einzunehmen, da in den verschiedenen Gruppen oft sehr ausführlich darüber diskutiert wird. Besonders die Auswirkungen auf zwischenmenschliche Beziehungen spielen dabei eine wichtige Rolle. Dabei zeigen sich auch Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Während Männer sich mehr Sorgen

um ihre eigene Gesundheit und Arbeitsfähigkeit machen, liegen bei Frauen die Probleme mehr darin, inwiefern ihre Erkrankung ihre Umwelt beeinflusst.

- Funktionelle Gesundheit:

Insbesondere die Symptome der Erkrankung beschränken die PatientInnen in ihrer Funktionalitäten. Als besonders störend wird empfunden, dass aufgrund von Abgeschlagenheit und Müdigkeit die normalen Tagesaktivitäten eingeschränkt werden.

- Arbeitsleben:

Bei den meisten PatientInnen dieser Studie hat die Erkrankung eine Auswirkung auf ihre Arbeit, bei manchen so weit, dass sie ihren Job kündigen mussten, bzw. einen Job annahmen, der zwar nicht ihren Vorlieben entsprach, jedoch mit einem geringen Blutungsrisiko einherging.

- Sozialleben und Freizeit:

Einschränkend finden die PatientInnen, dass die Hämatome für jeden sichtbar sind, und dass andere Menschen zum Teil falsche Schlussfolgerungen daraus ziehen (z.B. Gewalt in der Familie).

- Sexualeben und Fortpflanzung

Insbesondere die Abnahme der Libido als Nebenwirkung einer Cortisontherapie war für viele PatientInnen störend. Bei weiblichen Patientinnen wird vor allem die übermäßige Menstruationsblutung als einschränkend empfunden. Auch die Angst davor, keine Kinder bekommen zu können, spielt eine wichtige Rolle.

Dieses Konzept von Mathias et al. kann als Möglichkeit herangezogen werden, um den Erfolg einer Therapie für die PatientInnen zu überprüfen. Ebenso beschreibt es die wichtigsten Probleme, welche ITP-PatientInnen als besonders einschränkend empfinden.

Dabei zeigte sich in diesem Modell, dass insbesondere ein gutes Management der Symptome Müdigkeit und Abgeschlagenheit zu einer Verbesserung der Lebensqualität beitragen würde. Besonders häufig wurden auch die Nebenwirkungen einer Cortisontherapie als lebensqualitätsmindernd empfunden.

Mit dem Wissen darüber, was die Lebensqualität von ITP-PatientInnen besonders beeinflusst, kann somit eine Behandlung gezielter durchgeführt und die Lebensqualität von ITP-PatientInnen gesteigert werden.

3 Leben mit ITP – Fallbeschreibung einer 48jährigen Patientin

Die Symptome zeigten sich erstmalig im Jänner 1986, als R. einen Leistungsknick bei sich selbst bemerkt. Allgemeines Unwohlsein und Müdigkeit kamen hinzu. Die ersten spezifischen Symptome traten in Form von Petechien am ganzen Körper auf. Einige Wochen vor den ersten Symptomen litt R. an einem leichten grippalem Infekt. Nach einem Besuch bei ihrem Hausarzt überwies dieser sie an die Hämatologische Klinik im LKH Graz, wo die Diagnose einer ITP gestellt und mit einer Cortisontherapie begonnen wurde. Die TZ-Konzentration lag hier bei 3 000 / μ l. Noch am selben Tag verließ R. jedoch die Klinik wieder auf Revers, da sie ihre, zu diesem Zeitpunkt acht Monate alte Tochter noch stillte. Die weitere Therapie erfolgte deshalb nur mehr ambulant.

„Das Schlimmste zu Beginn war, dass ich meine Tochter sofort abstillen musste.“

In den nächsten Wochen verbesserten sich die TZ-Werte auf über 50 000 / μ l. Da die Nebenwirkungen der Cortisontherapie auch nach einer Verringerung der Dosierung zu einer für R. nicht akzeptablen Lebensqualitätsminderung führten, wurde das Cortison ganz abgesetzt. Zu diesen Nebenwirkungen gehörten Gewichtszunahme und Stimmungsschwankungen.

„Ich bekam plötzlich depressive Zustände, die ich sonst nie hatte, und so nicht kannte.“

Die TZ-Werte stabilisierten sich bei 20 000 / μ l. Trotz dieser sehr geringen TZ-Werte kam es nie zu ernsthaften Blutungskomplikationen. In Anbetracht der Diagnose ergaben sich auch für R. Änderungen in ihrem Leben, insbesondere im Bezug auf Hobbys.

„Die für mich wichtigste Veränderung war, dass ich als erstes das Motorrad verkauft habe.“

In der ersten Zeit nach der Diagnose informierte sich R. ausgiebig über ihre Erkrankung. Zudem wollte sie sich mit anderen Betroffenen austauschen, was aber nicht gelang.

„Ich fragte auf der Klinik nach, ob man nicht Andere kontaktieren könnte, um sich auszutauschen. Doch war dort niemand gewillt, mir dabei zu helfen, indem man zum Beispiel anderen Betroffenen meinen Namen und meine Telefonnummer gegeben hätte. Mir schien fast so, als hätten sie kein Interesse, dass Betroffene miteinander reden.“

1987 wurde R. zum zweiten Mal schwanger. Die Schwangerschaft verlief komplikationslos. Zwei Monate vor dem Geburtstermin wurde in Zusammenarbeit mit der Univ. Klinik für Hämatologie, der Univ. Klinik für Gynäkologie und einem der Gerinnungsspezialisten der Univ. Klinik für Innere Medizin eine Therapie mit Immunglobulinen begonnen, um vor der Geburt die TZ-Zahlen zu erhöhen. Im Rahmen dieser Therapie kam es zu einem Missverständnis zwischen den Kliniken. In einem der Arztbriefe der Univ. Klinik für Innere Medizin empfahl eine Assistenzärztin die sofortige Entbindung des Kindes mittels Sectio, ohne mit dem behandelnden Oberarzt Rücksprache gehalten zu haben.

„Ich bin mir sicher und glaube auch daran, dass diese Ärztin dies (Anm.: die Empfehlung für die sofortige Entbindung des Kindes) mit bestem Wissen und Gewissen empfohlen hat. Ihr fehlte es einfach an Erfahrungen mit bzw. Wissen über Schwangerschaften bei ITP-Patientinnen. Ich denke, sie war sich auch der Konsequenzen dieses achtlos hingeschriebenen Satzes nicht bewusst.“

Auf der Univ. Klinik für Gynäkologie wollte man der oben erwähnten Empfehlung sofort entsprechen. R. wehrte sich dagegen und versuchte dieses Missverständnis aufzuklären. Nach längeren Diskussionen und in Folge der Intervention des oben erwähnten Gerinnungsspezialisten konnte die Sectio verhindert werden. Dieser Vorfall erschütterte jedoch besonders das Vertrauen von R. in die Univ. Klinik Graz.

1988 wurde zwei Tage nach dem Geburtstermin R.s Sohn vaginal entbunden. Es gab keine Geburtskomplikationen bei R., aber das Neugeborene litt an einer Thrombozytopenie hervorgerufen durch die Plazenta gängigen Antikörper der Mutter.

Nach zwei Tagen verließ R. mit ihrem Sohn auf Revers die Neonatologie-Station der Univ. Klinik Graz.

„Ich wollte nicht länger zuschauen, wie mein Kind in dieser lieblosen Umgebung voller Geräte herumlag.“

1992 wurde R. mit ihrem dritten Kind schwanger. Auch in diesem Fall wollte man mit einer Immunglobulintherapie vor der Entbindung beginnen. Doch noch während der Vorbereitung auf diese Therapie setzten die Wehen ein und R.s zweite Tochter wurde im 7. Schwangerschaftsmonat ohne Komplikationen bei R. geboren. Aufgrund der verfrühten Geburt litt jedoch ihre Tochter stärker unter der Thrombozytopenie, als ihr vier Jahre zuvor geborener Sohn. Sie erholte sich jedoch komplikationslos davon und entwickelte sich in den weiteren Jahren normal.

In den folgenden Jahren lebte R. subjektiv relativ beschwerdefrei trotz anhaltender TZ-Werte zwischen 10 000 – 40 000 / μ l. Zu den einzigen für sie erwähnenswerten Ereignissen zählte ein Vorfall, an welchem sie „Blut schwitzte“. Gelegentlich auftretende Petechien waren für R. kaum störend. Lediglich übermäßige Menstruationsblutungen, welche seit der dritten Geburt auftraten, waren für R. subjektiv störend und einschränkend. Diese ließen sich jedoch durch die Einlage einer Hormonspirale für R. zufriedenstellend verringern.

Da für R. der Nutzen der Cortisontherapie die Nebenwirkungen nicht aufwiegte, wurde keine weitere Cortisontherapie durchgeführt. Daneben widmete sich R. auch alternativmedizinischen Ansätzen wie z.B. Akupunktur und Schüsslersalzen. Keine dieser Behandlungen führte jedoch nachhaltig zu einer Verbesserung, weder subjektiv im Befinden von R. noch objektiv anhand der TZ-Werte.

2002 war R. mit einer Gastroenteritis ambulant in der Univ. Klinik für Innere Medizin. Die TZ- Konzentration lag bei 6 000 / μl . Da jedoch keine Blutungen oder Petechien auftraten, wurde von einer Therapie mit Cortison abgesehen, zumal R. auch kein Cortison einnehmen wollte.

2005 war R. zuletzt bei einer Kontrolle in der Univ. Klinik für Hämatologie. Ihre TZ-Konzentration lag bei 37 000 / μl , weswegen von einer Therapie abgesehen wurde. Für geplante Operationen empfahl die Klinik die Einnahme von 75 mg Aprednisolon. Weitere Kontrolltermine in den nächsten Jahren nahm R. nicht wahr.

Im Jänner 2006 stürzte R. in ihrem Haus die Treppe hinunter und wurde daraufhin im Schockraum der Univ. Klinik für Unfallchirurgie in Graz behandelt. Trotz erster Befürchtungen und TZ-Werte bei 15 000 / μl zeigten sich keine übermäßigen Blutungen. Ebenso erlitt sie keine Frakturen. Eine minimale Leberlazeration war nachweisbar, welche in einer weiteren Oberbauchsonographie nicht mehr erkennbar war. Lediglich die Milzgröße war mit 13,4 cm etwas über der Norm.

Bei einem letzten Kontrollbesuch auf der Univ. Klinik für Hämatologie wurde R. die Möglichkeit einer Therapie mit Rituximab vorgeschlagen, da ihre TZ-Werte immer wieder, allerdings ohne Symptome, unter 10 000 / μl sanken. Rituximab ist ein CD20-Antikörper, welcher ursprünglich für die Therapie von Lymphomen entwickelt wurde und in den letzten Jahren erfolgreich bei Autoimmunkrankheiten eingesetzt wird.

Derzeit ist R. beschwerdefrei ohne Therapie. Ihre TZ-Werte während der Versuche zu dieser Diplomarbeit lagen immer unter 10 000 / μl . In Anbetracht dieser niedrigen Werte überlegt sie, doch eine Therapie mit dem CD20-Antagonisten Rituximab in Betracht durchzuführen.

4 Methoden

4.1 Blutabnahme

Die ersten Versuche wurden mit freiwilligen Probanden durchgeführt, bei welchen TZ Konzentrationen zwischen 150 000 - 250 000 / μl gemessen wurden. Als Voraussetzungen für die Blutabnahme sollten die Probanden nüchtern sein und drei Wochen vorher keine Aggregationshemmer (z.B. Aspirin) eingenommen haben [Born & Cross, 1963].

Die Blutabnahmen erfolgten unter sterilen Bedingungen aus der Cubitalvene. Dazu wurde eine großvolumige Strauß-Kanüle verwendet, um die TZ möglichst wenig zu schädigen. Noch während der Blutabnahme wurde das Vollblut mit Citrat gemischt. Dabei wurde ein Verhältnis Vollblut : Citrat von 9 : 1 verwendet.

4.2 Herstellung von plättchenreichem Plasma (PRP)

Die Proben wurden für 10 min bei 200 g und 21 °C zentrifugiert [Logos Laborgeräte GmbH, 1983]. Das PRP wurde vermessen und solange mit PPP verdünnt bis eine Konzentration von 10 000 - 20 000 / μl erreicht wurde. Für das gesamte Verfahren wurden Zentrifugenbehälter aus Kunststoff mit Spitzboden verwendet.

4.3 Herstellung von „platelet poor plasma“ (PPP)

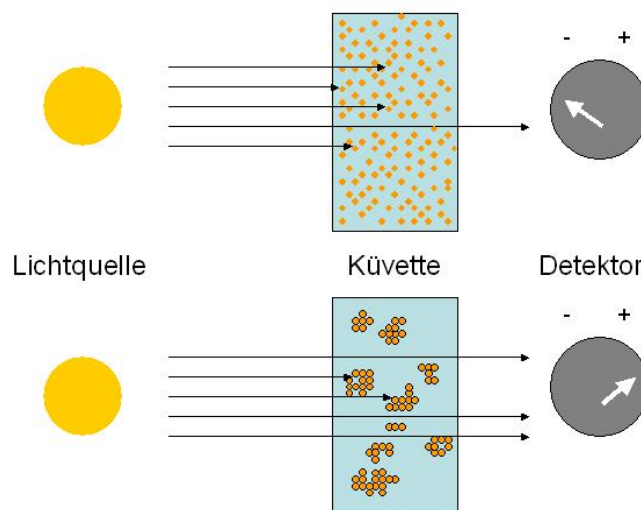
Das venöse Blut wurde für 20 Min bei 1500 g zentrifugiert. [Born & Cross, 1963]

4.4 Thrombozyten-Aggregometrie

Zur Messung der Aggregation diente die von Born 1962 beschriebene Methode der Licht-Transmissions-Aggregometrie (LTA), der de facto „Gold Standard“ der Funktionsmessung von TZ [Heyns et al., 1978]. Der große Vorteil dieser Methode ist die Aggregationsmessung anhand der Aggregation der TZ untereinander über das GP IIb/IIIa [Born, 1962].

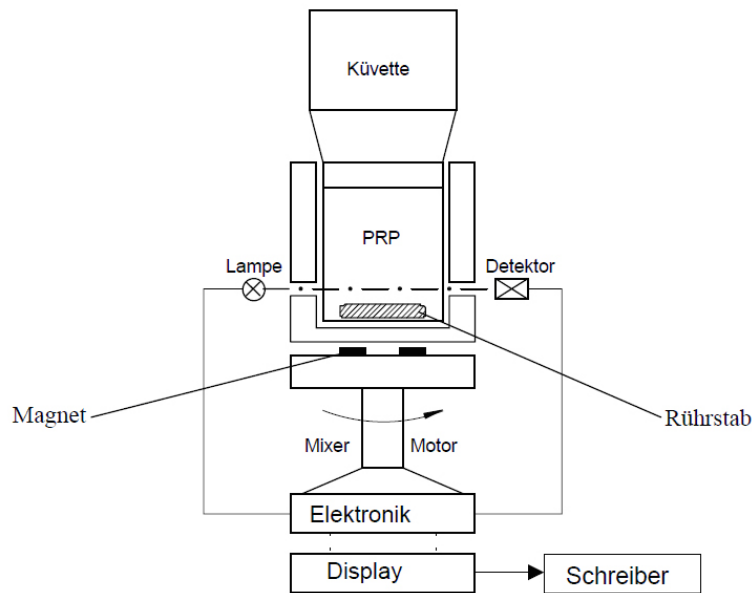
Bei der LTA wird PRP in eine lichtdurchlässige Küvette überführt. Durch die Trübung im PRP gelangt im Messgerät nur ein Bruchteil des Lichtes hindurch. PPP wird als maximal erreichbarer Wert vermessen. Durch Zufügen eines Agonisten und die dadurch einsetzende Aggregation erhöht sich die Lichtdurchlässigkeit. Die Durchmischung von PRP und Agonist erfolgt durch einen Magnetrührstab. Die zunehmende Lichttransmission im Bezug auf die Zeit steht in direktem Verhältnis zur Thrombozytenaggregation. Je nachdem, welcher Agonist für die Aktivierung verwendet wurde, lassen die Ergebnisse Rückschlüsse auf die Thrombozytenfunktion zu. [Born & Cross, 1963]

Schematische Darstellung der LTA:



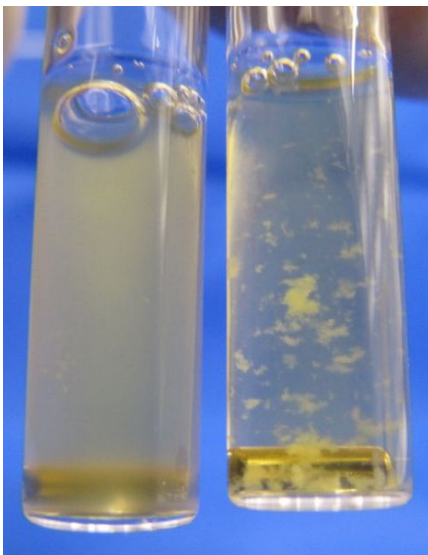
[Abb. 10] Schematische Darstellung der LTA [Wikipedia, 2010]

Aufbau eines Aggregometers für LTA:



[Abb. 11] Aufbau eines Aggregometers [Kienzle, 2003]

Abb.12 zeigt links eine Messküvette mit PRP, rechts eine nach Aggregationsauslösung mit ADP (flockiges Aussehen). Am Boden der Messküvette sieht man deutlich den magnetischen Rührstab.



[Abb. 12] Messküvetten mit PRP und nach der Aggregation

Als Agonisten werden ADP und Kollagen eingesetzt. Diese aktivieren das Glykoprotein GP IIb/IIIa. Dadurch kann Fibrinogen an dieses Glykoprotein binden und so die Thrombozyten miteinander verbinden [Born, 1962].

Alle Aggregationsversuche wurden mit dem Elvi 840 Aggregometer durchgeführt. Dies ist ein Zwei-Kanal Photometer mit auf 37 °C thermostatisiertem Messblock mit Präzisionsoptik. Das Magnetrührwerk war eingestellt auf 1000 rpm [Born, 1962]. Die maximale Lichtdurchlässigkeit wurde mit PPP eingestellt. Das Probenvolumen von 240 µl wurde 15 Minuten bei 37°C inkubiert. Laut Gebrauchsanweisung des Elvi 840 sind mindestens vier Minuten empfohlen [Logos Laborgeräte GmbH, 1983]. Anschließend begann die Messung, bei welcher 10 bzw. 20 µl des Aggregationsauslösers hinzugefügt wurden.

Zur Auswertung der Aggregationskurven wurden folgende Werte ermittelt:

a = Latenzzeit: Zeit zwischen Zugabe von Reagenz und Aggregationsanfang

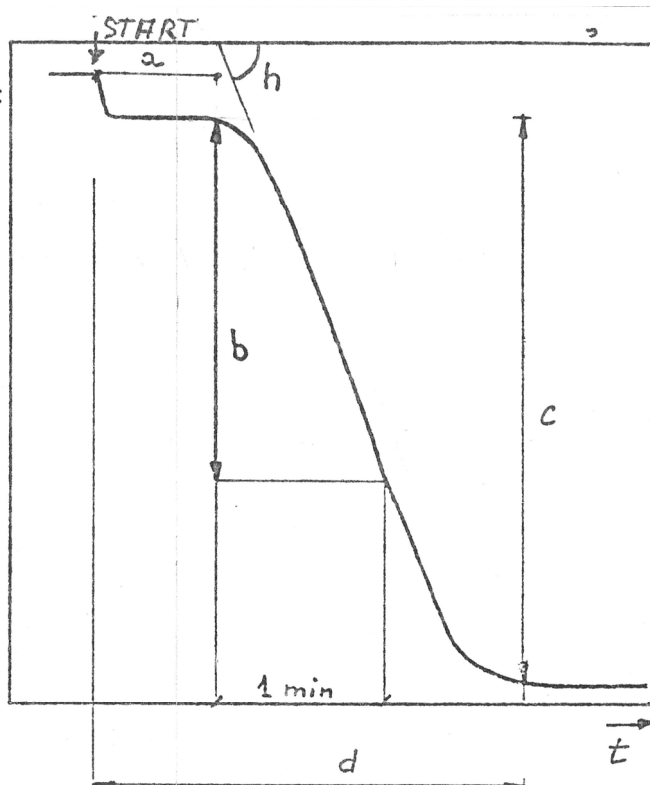
b = Max. Aggregationsgeschwindigkeit: Anstieg in Millimetern nach 1 Minute

h = Max. Aggregationsgeschwindigkeit: Anstieg ausgedrückt in Winkelgraden

c = Max. Aggregation: Distanz zwischen Basis-Linie und max.

Transmissionsänderung in Millimeter oder Prozent zu PPP

d = Zeit für max. Aggregation



[Abb. 13] Schema der Aggregationskurven-Auswertung [Logos Laborgeräte GmbH, 1983]

4.5 Berechnungen

Aufkonzentrierungsverfahren (siehe 5.1):

- Absolute Menge an TZ in der Probe = Volumen der Probe x
- TZ-Konzentration
- Nach Aufkonzentrierung resuspendierte Menge an TZ = Menge der TZ nach dem Verfahren / Menge an TZ vor dem Verfahren x 100

Vergleich mit und ohne Aufkonzentrierungsverfahren (siehe 5.3):

- Veränderung = Messwert ohne Aufkonzentrierung / Messwert mit Aufkonzentrierung (in %)

Durch die Aufkonzentrierung wurde die TZ-Funktion verändert. Da die Aggregationsmessungen bei der gesunden Probandin ohne eine Aufkonzentrierung gemacht wurden, wurden die Messwerte der ITP-Patient mit den in Kapitel 5.3 ermittelten Werten umgerechnet, um die Veränderungen durch die Aufkonzentrierung zu normieren (siehe 5.4):

- normierte Werte der ITP Patientin = Messwerte x Veränderung

4.6 Reagenzien

Als Aggregationsauslöser wurden ADP und Kollagen zugesetzt:

- ADP:
 - o Anfangskonzentration: 260 $\mu\text{mol/l}$
 - o Endkonzentration nach Zugabe von 10 μl : 10,4 $\mu\text{mol/l}$
 - o Endkonzentration nach Zugabe von 20 μl : 20 $\mu\text{mol/l}$
- Kollagen:
 - o Anfangskonzentration: 100 $\mu\text{g/ml}$
 - o Endkonzentration nach Zugabe von 10 μl : 4 $\mu\text{g/ml}$
 - o Endkonzentration nach Zugabe von 20 μl : 7,7 $\mu\text{g/ml}$

Rinderalbuminlösung 1 % Lösung diente zum Coaten der Zentrifugengläser.

Um die vorzeitige Aggregation zu verhindern wurde das venöse Blut während der Abnahme mit folgendem Antikoagulant gemischt:

- 93 mM Na₃ – Citrat
- 7 mM Zitronensäure
- 140 mM D – Glucose

4.7 Aufkonzentrierung von plättchenreichem Plasma

Laut Gerätebeschreibung wird empfohlen eine TZ-Konzentration von 200 000 - 300 000 / µl zu verwenden, um eine aussagekräftige Kurve im Elvi 840 Aggregometer zu erhalten. TZ-Konzentrationen unter 100 000 / µl empfehlen sich nicht [Logos Laborgeräte GmbH, 1983].

In den Anfangsversuchen wurden zwei in der Literatur bereits beschriebene Methoden miteinander verglichen, um ein möglichst einfaches und auch reproduzierbares Verfahren zu finden, bei welchem die TZ möglichst wenig zu Schaden kommen.

4.7.1 Aufkonzentrierung nach Aviram et al. [Aviram et al., 1988]

Nach der Herstellung von PRP wurde die Probe ein weiteres Mal bei 21 °C bei 1600 g für 20 min zentrifugiert. Die TZ sammelten sich als Sediment am Boden des Zentrifugenbehälters. Das Plasma wurde bis auf einen Rest von 1 ml abgehoben und danach die TZ in der verbliebenen Restmenge Plasma resuspendiert.

4.7.2 Aufkonzentrierung modifiziert nach Heyns et al. [Heyns et al., 1978]

Die Zentrifugenbehälter wurden gefüllt mit 1 % Rinderalbuminlösung, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stengelassen und erst unmittelbar vor dem Versuch entleert. Danach wurde das PRP eingefüllt und bei 21 °C bei 1600 g für 20 min zentrifugiert. Die TZ sammelten sich als Sediment am Boden des Zentrifugenbehälters. Das Plasma wurde bis auf einen Rest von 1 ml abgehoben und danach die TZ in der verbliebenen Restmenge Plasma resuspendiert.

4.8 Probanden

Eine 48jährige Patientin, welche im Jahr 1985 an ITP erkrankte.

Mehrere gesunde ProbandInnen unterschiedlichen Alters, die in den drei Wochen zuvor keine Aggregationshemmer eingenommen hatten. Darunter eine Probandin im gleichen Alter wie die Patientin, um die TZ-Aggregation unter denselben Laborbedingungen vergleichen zu können.

4.9 Fallbeschreibung

Die Fallbeschreibung setzt sich aus Arztbriefen sowie eigenen Erzählungen der Patientin zusammen. Besonders Wert wird auf den Krankheitsverlauf sowie das persönliche Erleben der Erkrankung gelegt. Insbesondere Symptome und Einschränkungen, welche die subjektive Lebensqualität der Patientin beeinflussen, finden ausreichend Platz in der Fallbeschreibung, da nicht nur der medizinische Aspekt, objektiv messbar anhand der TZ-Konzentration im Blut, sondern mehr noch der persönliche Umgang mit der Erkrankung für die Patientin in der Bewältigung ihrer Erkrankung ausschlaggebend ist.

5 Ergebnisse

5.1 Aufkonzentrierung von plättchenreichem Plasma

BB und PRP:		
TZ	254	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
MPV	6,3	fl
Hct	40,2	%
RBC	4,55	$\times 10^6 / \mu\text{l}$
WBC	4,6	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
PRP	38	$\times 10^3 / \mu\text{l}$

[Tabelle 2] Blutprobe für den Vergleich beider Aufkonzentrierungsmethoden

1. Probe:

TZ-Konzentration: 38 000 TZ / μl auf 5500 μl

Aufkonzentrieren:

1600 g für 20 min

5000 μl Überstand abgehoben

TZ resuspendiert in 500 μl

Mit BSA gecoatet:

TZ-Konzentration: 233 000 / μl = 6,1 fache Konzentration zum Ausgangswert

Von der Ursprungsmenge resuspendierte TZ:

$$233000 \times 500 / 38000 \times 5500 = 0,56 = 56 \% \text{ der TZ}$$

Ohne BSA:

TZ-Konzentration: 117 000 / μl = 3,1 fache Konzentration zum Ausgangswert

Von der Ursprungsmenge resuspendierte TZ:

$$117000 \times 500 / 38000 \times 5500 = 0,27 = 27 \% \text{ der TZ}$$

2. Probe:

TZ-Konzentration: 38 000 TZ / μl auf 5500 μl

Aufkonzentrieren:

1600 g für 20 min

5000 μl Überstand abgehoben

TZ resuspendiert in 500 µl

Mit BSA gecoatet:

TZ-Konzentration: 155 000 / µl = 4,1 fache Konzentration zum Ausgangswert

Von der Ursprungsmenge resuspendierte TZ:

$$155000 \times 500 / 38000 \times 5500 = 0,37 = 37 \% \text{ der TZ}$$

Ohne BSA:

TZ-Konzentration: 69 000 / µl = 1,8 fache Konzentration zum Ausgangswert

Von der Ursprungsmenge resuspendierte TZ:

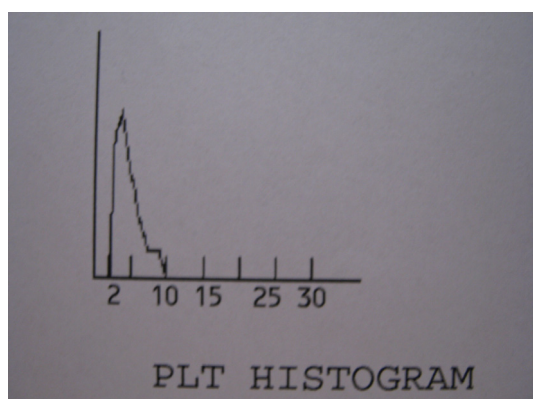
$$69000 \times 500 / 38000 \times 5500 = 0,17 = 17 \% \text{ der TZ}$$

	Mit BSA gecoatet		Ohne BSA	
	TZ-Konzentration	resuspendierte TZ	TZ-Konzentration	resuspendierte TZ
1. Probe	233 000 / µl	56 %	117 000 / µl	27 %
2. Probe	155 000 / µl	37 %	69 000 / µl	17 %

[Tabelle 3] Vergleich der Aufkonzentrierung mit BSA gecoatet bzw. ohne BSA

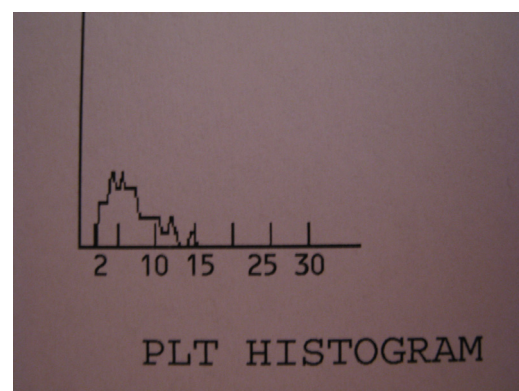
Bei dem Versuch mit der 2. Probe war die Ausbeute an TZ nach der Aufkonzentrierung bei beiden Methoden so gering, dass nach einer anderen Erklärung gesucht wurde. Dabei fielen die Ergebnisse des TZ-Histogramms aus dem Blood-Cell-Counter auf.

TZ-Histogramm vor der Aufkonzentrierung:



[Abb. 14] Thrombozyten-Histogramm vor der Aufkonzentrierung

TZ-Histogramm nach der Aufkonzentrierung:



[Abb. 15] Thrombozyten-Histogramm nach der Aufkonzentrierung

Das Volumen der TZ nach der Aufkonzentrierung ist größer als bei den anderen Versuchen. Zudem konnten Leukozyten nachgewiesen werden, die im für die Aufkonzentrierung verwendeten PRP nicht in dem Ausmaß vorkamen.

Diese Ergebnisse könnte auf Mikroaggregate der TZ hindeuten, da diese im Blood-Cell-Counter als Leukozyten identifiziert und gezählt werden. Die Folge ist eine falsch-niedrige TZ-Konzentration. Dieses Phänomen wurde bei 2% aller stationären Patienten beschrieben, insbesondere bei Patienten mit antithrombozytären Antikörpern. [Marino, 2008]

5.2 Vorbereitungen der Blutproben von ITP-Patientin und gesunder Probandin

5.2.1 Blutprobe ITP-Patientin

BB und PRP:		
TZ	< 10	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
MPV	Nicht messbar	fl
Hct	46,5	%
RBC	5,11	$\times 10^6 / \mu\text{l}$
WBC	6,4	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
PRP	24	$\times 10^3 / \mu\text{l}$

[Tabelle 4] BB und PRP der ITP-Patientin

Insgesamt wurden 50 ml Citratblut zentrifugiert. Daraus konnten 10 ml PRP für die weitere Ankonzentrierung gewonnen und in einen mit 1 % Rinderalbumin gecoateten Zentrifugalbehälter eingefüllt werden.

Unmittelbar danach erfolgte die Ankonzentrierung mittels Zentrifuge bei 1600 g für 20 Minuten. Überstand bis auf 1 ml abgehoben und danach die TZ in der Restmenge resuspendiert.

Erreichte TZ-Konzentration: 274 000 / μl

5.2.2 Blutprobe gesunde Probandin

BB und PRP:		
TZ	271	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
MPV	6,7	fl
Hct	40,2	%
RBC	4,49	$\times 10^6 / \mu\text{l}$
WBC	6,8	$\times 10^3 / \mu\text{l}$
PRP	784	$\times 10^3 / \mu\text{l}$

[Tabelle 5] BB und PRP der gesunden Probandin

Erster Versuch ohne Aufkonzentrierung, jedoch mit Verdünnung des PRP um in einen vermessbaren Bereich zu kommen.

TZ-Konzentration nach Verdünnung 1:1,5 mit PPP: 266 000 / μl

5.3 Aggregometrie mit und ohne Aufkonzentrierungsverfahren

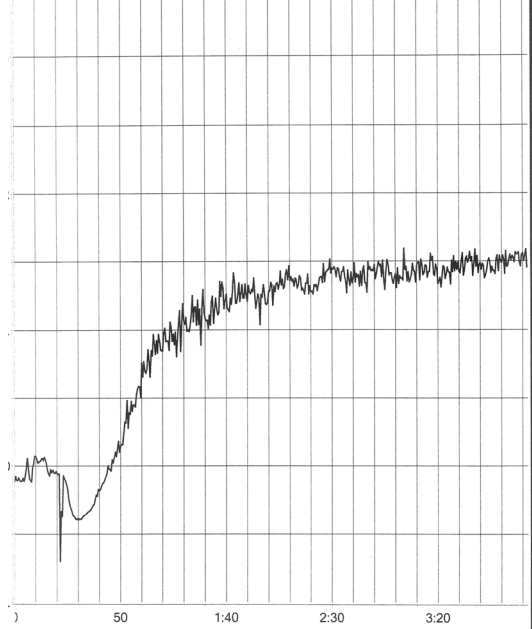
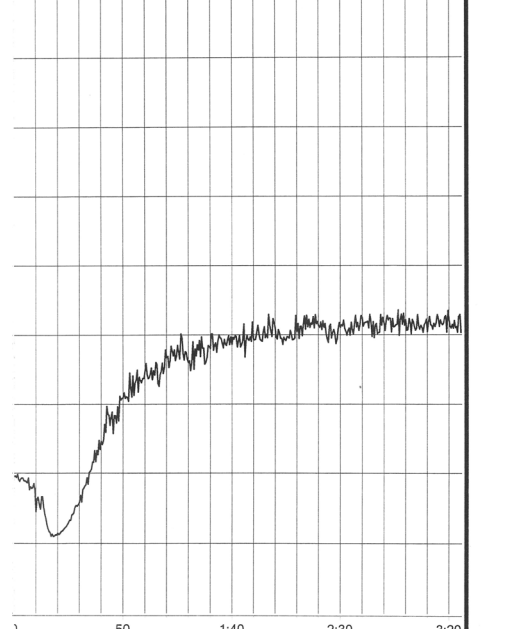
Bei der gesunden Probandin wurde das PRP mit Plasma bis zu einer Konzentration von 33 000 / μl verdünnt und danach wieder in einem mit BSA gecoateten Zentrifugalröhrchen, unter den selben Bedingungen wie oben beschrieben, aufkonzentriert:

10 ml verdünntes PRP wurde in einen mit 1 % Rinderalbumin gecoateten Zentrifugalbehälter eingefüllt.

Unmittelbar danach erfolgte die Aufkonzentrierung mittels Zentrifuge bei 1600 g für 20 Minuten. Überstand bis auf 1 ml abgehoben und danach die TZ in der Restmenge resuspendiert.

Erreichte TZ-Konzentration: 287 000 / μl

5.3.1 Aggregationskurven nach Zugabe von 10 µl ADP

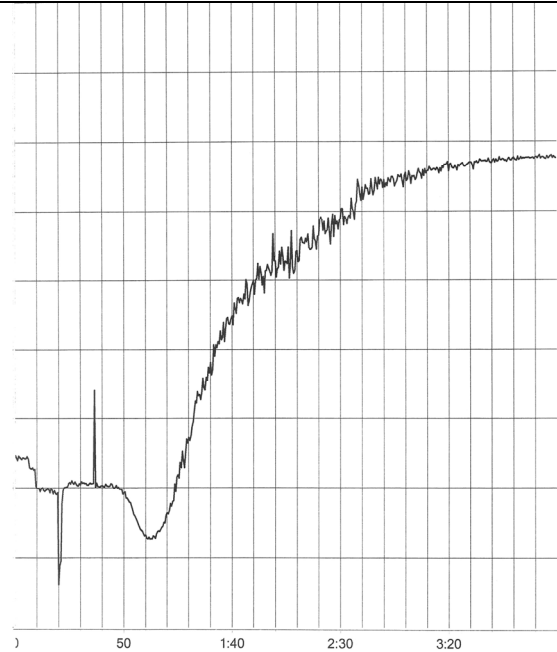
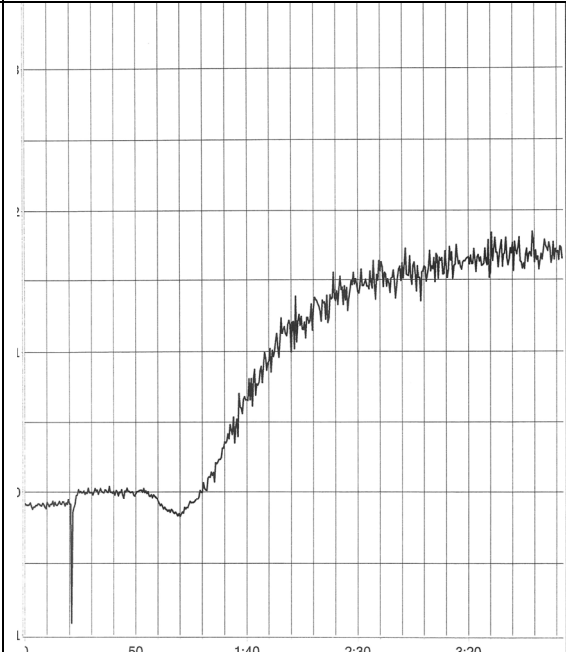
<u>ohne</u> Aufkonzentrierung TZ-Konzentration: 266 000 / µl	<u>mit</u> Aufkonzentrierung TZ-Konzentration: 287 000 / µl
 <p data-bbox="236 1070 769 1160">[Abb. 16] Aggregometrie ohne Aufkonzentrierung, 10 µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l</p>	 <p data-bbox="826 1070 1359 1160">[Abb. 17] Aggregometrie mit Aufkonzentrierung, 10 µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l</p>
Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 53 mm / min Anstiegswinkel: 60° Max. Aggregation: 51 mm ; 48 % Zeit für max. Aggregation: 142 s	Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 47 mm / min Anstiegswinkel: 57° Max. Aggregation: 47 mm ; 45 % Zeit für max. Aggregation: 134 s

Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl ADP / Endkonzentration 10,4 µmol/l:

	Prozent <u>mit</u> zu <u>ohne</u> Aufkonzentrierung
Max. Geschwindigkeit	113 %
Anstiegswinkel	105 %
Max. Aggregation	109 %
Zeit für max. Aggregation	106 %

[Tabelle 6] Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl ADP

5.3.2 Aggregationskurven nach Zugabe von 10 µl Kollagen

<u>ohne</u> Aufkonzentrierung TZ-Konzentration: 266 000 / µl	<u>mit</u> Aufkonzentrierung TZ-Konzentration: 287 000 / µl
	
<p>[Abb. 18] Aggregometrie ohne Aufkonzentrierung, 10 µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml</p> <p>Latenzzeit: 36 s Max. Geschwindigkeit: 68 mm / min Anstiegswinkel: 66° Max. Aggregation: 79 mm ; 77 % Zeit für max. Aggregation: 222 s</p>	<p>[Abb. 19] Aggregometrie mit Aufkonzentrierung, 10 µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml</p> <p>Latenzzeit: 34 s Max. Geschwindigkeit: 51 mm / min Anstiegswinkel: 59° Max. Aggregation: 59 mm ; 55 % Zeit für max. Aggregation: 206 s</p>

Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl Kollagen / Endkonzentration 4 µg/ml:

	Prozent <u>mit</u> zu <u>ohne</u> Aufkonzentrierung
Latenzzeit	106 %
Max. Geschwindigkeit	133 %
Anstiegswinkel	112 %
Max. Aggregation	134 %
Zeit für max. Aggregation	108 %

[Tabelle 7] Vergleich der Aggregationskurven ohne bzw. mit Aufkonzentrierung nach Auslösung mit 10 µl Kollagen

5.4 Aggregometrie bei ITP-Patientin und gesunder Probandin

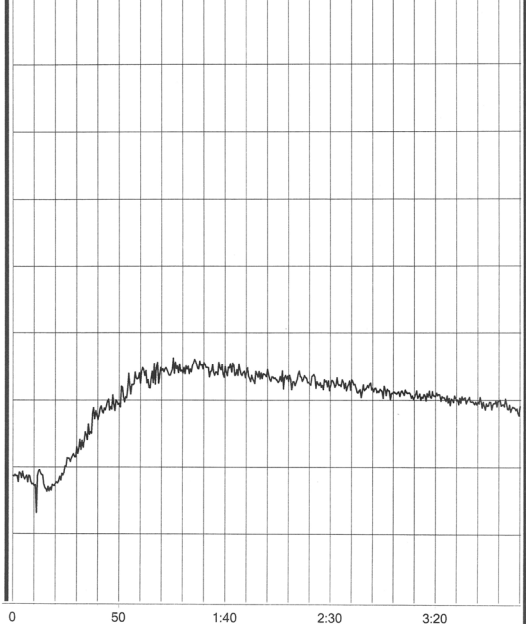
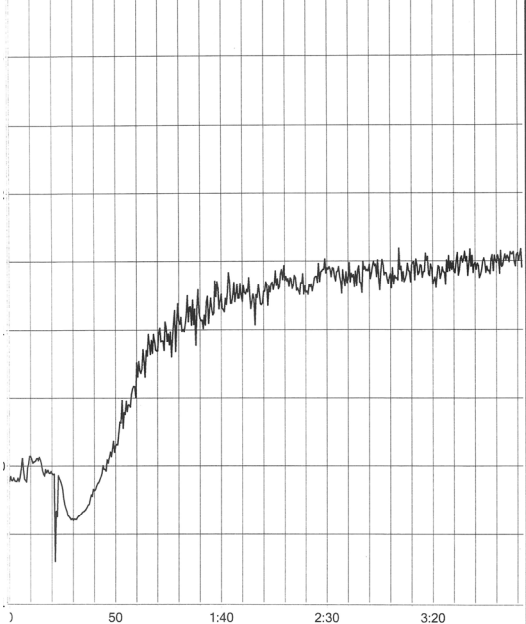
Vor der Aggregometrie wurde die Probe für 15 Minuten bei 37 °C inkubiert. Die Messung erfolgte unmittelbar danach.

Bei beiden Probanden war das Gesamtvolumen an PRP ausreichend, um vier Aggregationsversuche durchführen zu können. Dabei wurden jeweils 10 bzw. 20 µl ADP und 10 bzw. 20 µl Kollagen als Aggregationsauslöser verwendet.

Die Aggregationsmessungen mit den TZ der ITP-Patientin konnten nur nach Aufkonzentrierung durchgeführt werden. Die Aggregationsmessungen mit den TZ der gesunden Probandin wurden ohne Aufkonzentrierung durchgeführt. Wie bereits in Kapitel 5.2 festgestellt, hat das Aufkonzentrierungsverfahren Auswirkungen auf die TZ-Funktion.

Um die Messwerte der ITP-Patientin mit den Messwerten der gesunden Probandin vergleichen zu können, wurden die Messwerte mit den Werten aus in Kapitel 5.2 umgerechnet. In der Tabelle sind diese Werte kursiv gekennzeichnet.

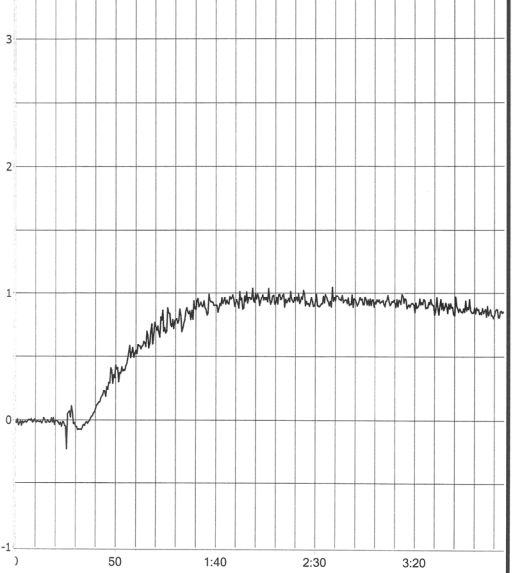
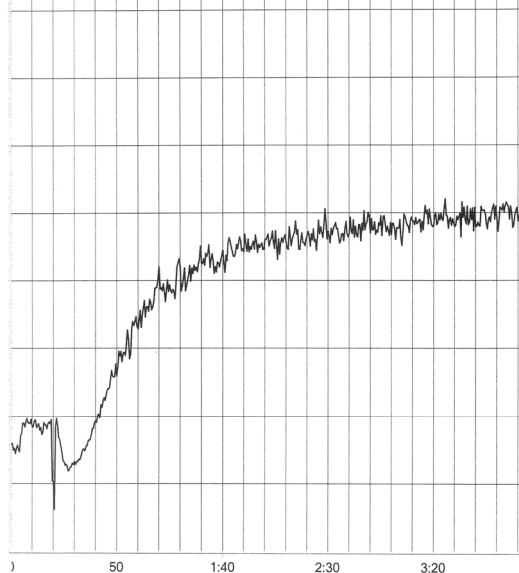
5.4.1 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 10 µl ADP

ITP-Patientin TZ-Konzentration: 274 000 / µl	Gesunde Probandin TZ-Konzentration: 266 000 / µl
	
<p>[Abb. 20] Aggregometrie ITP-Patientin, 10µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l</p>	<p>[Abb. 21] Aggregometrie gesunde Probandin, 10µl ADP, Endkonzentration 10,4 µmol/l</p>
<p>Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 30 mm/min Anstiegswinkel: 45° Max. Aggregation: 29 mm ; 36 % Zeit für max. Aggregation: 66 s</p>	<p>Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 58 mm/min Anstiegswinkel: 60° Max. Aggregation: 51 mm ; 48 % Zeit für max. Aggregation: 142 s</p>

	<i>ITP-Patientin</i>	Gesunde Probandin	
Latenzzeit	< 1	< 1	s
Max. Geschwindigkeit	33,9	58	mm/min
Anstiegswinkel	47,3	60	°
Max. Aggregation	31,6	51	mm
Zeit für max. Aggregation	70	142	s

[Tabelle 8] Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 10 µl ADP

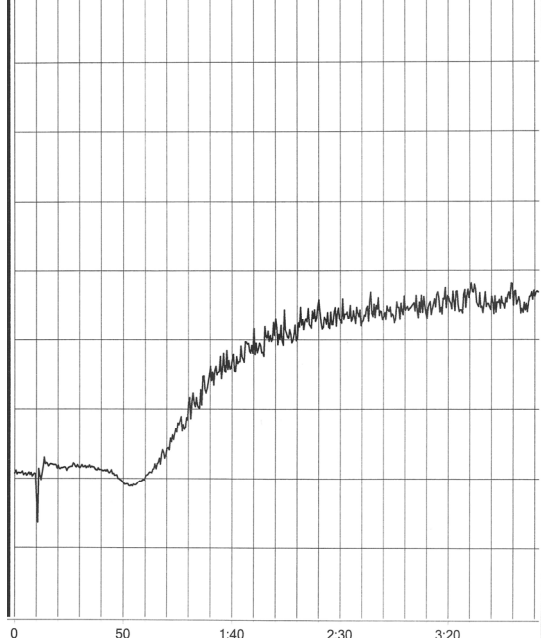
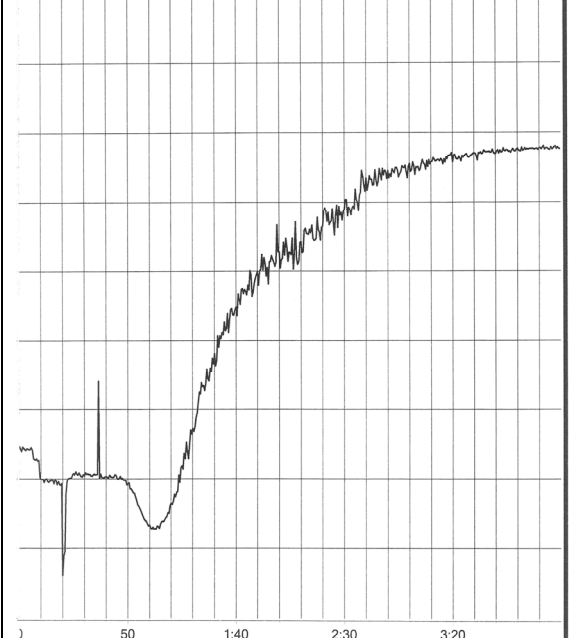
5.4.2 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 20 µl ADP

ITP-Patientin TZ-Konzentration: 274 000 / µl	Gesunde Probandin TZ-Konzentration: 266 000 / µl
	
<p>[Abb. 22] Aggregometrie ITP-Patientin, 20µl ADP, Endkonzentration 20 µmol/l</p>	<p>[Abb. 23] Aggregometrie gesunde Probandin, 20µl ADP, Endkonzentration 20 µmol/l</p>
<p>Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 30 mm/min Anstiegswinkel: 41° Max. Aggregation: 32 mm ; 41 % Zeit für max. Aggregation: 92 s</p>	<p>Latenzzeit: < 1 s Max. Geschwindigkeit: 49 mm/min Anstiegswinkel: 58° Max. Aggregation: 51 mm ; 49% Zeit für max. Aggregation: 182 s</p>

	<i>ITP-Patientin</i>	Gesunde Probandin	
Latenzzeit	< 1	< 1	s
Max. Geschwindigkeit	33,9	49	mm/min
Anstiegswinkel	43,1	58	°
Max. Aggregation	34,9	51	mm
Zeit für max. Aggregation	97,5	182	s

[Tabelle 9] Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 20 µl ADP

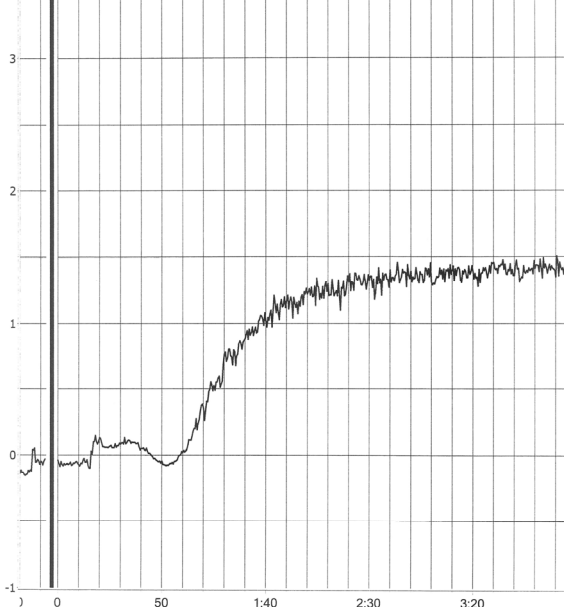
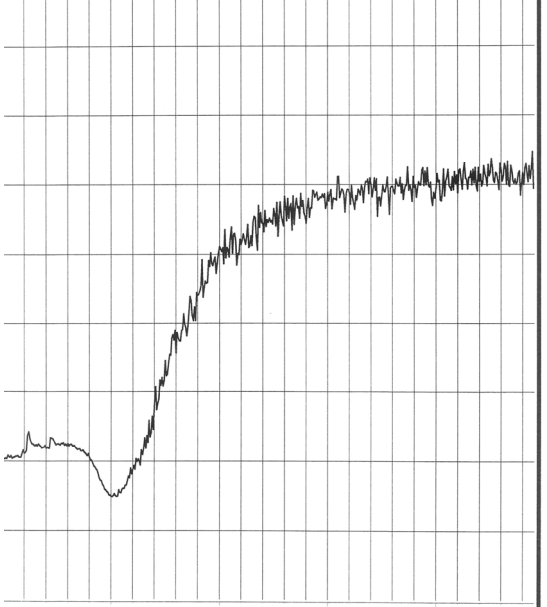
5.4.3 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 10 µl Kollagen

ITP-Patientin TZ-Konzentration: 274 000 / µl	Gesunde Probandin TZ-Konzentration: 266 000 / µl
	
<p>[Abb. 24] Aggregometrie ITP-Patientin, 10µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml</p>	<p>[Abb. 25] Aggregometrie gesunde Probandin, 10µl Kollagen, Endkonzentration 4 µg/ml</p>
<p>Latenzzeit: 30 s Max. Geschwindigkeit: 35 mm/min Anstiegswinkel: 49° Max. Aggregation: 42 mm ; 55 % Zeit für max. Aggregation: 208 s</p>	<p>Latenzzeit: 36 s Max. Geschwindigkeit: 68 mm/min Anstiegswinkel: 66° Max. Aggregation: 79 mm ; 77 % Zeit für max. Aggregation: 222 s</p>

	<i>ITP-Patientin</i>	Gesunde Probandin	
Latenzzeit	31,8	36	s
Max. Geschwindigkeit	46,6	68	mm/min
Anstiegswinkel	54,9	66	°
Max. Aggregation	56,3	79	mm
Zeit für max. Aggregation	224,6	222	s

[Tabelle 10] Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 10 µl Kollagen

5.4.4 Aggregationskurven und Auswertung nach Zugabe von 20 µl Kollagen

ITP-Patientin TZ-Konzentration: 274 000 / µl	Gesunde Probandin TZ-Konzentration: 266 000 / µl
	
<p>[Abb. 26] Aggregometrie ITP-Patientin, 20µl Kollagen, Endkonzentration 7,7 µg/ml</p>	<p>[Abb. 27] Aggregometrie gesunde Probandin, 20µl Kollagen, Endkonzentration 7,7 µg/ml</p>
<p>Latenzzeit: 26 s Max. Geschwindigkeit: 41 mm / min Anstiegswinkel: 52° Max. Aggregation: 49 mm ; 61 % Zeit für max. Aggregation: 106 s</p>	<p>Latenzzeit: 22 s Max. Geschwindigkeit: 63 mm / min Anstiegswinkel: 63° Max. Aggregation: 65 mm ; 66 % Zeit für max. Aggregation: 188 s</p>

	<i>ITP-Patientin</i>	Gesunde Probandin	
Latenzzeit	27,6	22	s
Max. Geschwindigkeit	54,5	63	mm/min
Anstiegswinkel	58,2	63	°
Max. Aggregation	65,7	65	mm
Zeit für max. Aggregation	114,5	188	s

[Tabelle 11] Auswertung nach Aggregationsauslösung mit 20 µl Kollagen

6 Diskussion

Nicht nur die Konzentration der TZ ist für das thrombozytäre System der Hämostase wichtig, sondern auch ihre Funktion. Eine Möglichkeit, die Thrombozytenfunktion in vitro zu messen ist die Licht-Transmissions-Aggregometrie. Bei PatientInnen mit ITP ist die TZ-Konzentration zu niedrig, um auf die herkömmliche Vorgehensweise vermessbare Aggregationskurven zu erhalten. Durch die Herstellung von PRP kann das Zwei- bis Dreifache der ursprünglich im Vollblut gemessenen TZ-Konzentration erreicht werden. Dies ist in diesem Fall jedoch noch nicht ausreichend, um eine vermessbare Konzentration zu erreichen.

Ziel dieser Arbeit war, eine Möglichkeit zur Anreicherung von TZ zu finden, welche auf der einen Seite weitere Untersuchungen mittels Aggregometrie ermöglichte und dazu auch einfach umzusetzen war. Um die Funktion der TZ möglichst zu erhalten, wurden alle Versuche im Plasma durchgeführt, wie es schon von Heyns in seiner Studie empfohlen wurde [Heyns et al., 1978].

Zwei Verfahren zur Aufkonzentrierung von TZ wurden miteinander verglichen:

- PRP direkt zentrifugiert [Aviram et al., 1988]
- PRP in zuvor mit BSA gecoateten Röhrchen zentrifugiert [Heyns et al., 1978]

Eine Aufkonzentrierung nach der Vorlage von Aviram ist die technisch einfachere Methode, da das PRP direkt aufkonzentriert wird. Die TZ-Konzentration im PRP, die aufkonzentriert werden sollte, war $< 30\,000 / \mu\text{l}$. Auf der einen Seite konnten die TZ mit der Methode nach Aviram um ein Vielfaches aufkonzentriert werden. Auf der anderen Seite gab es mehrere Gründe, weshalb die erreichten TZ-Konzentrationen nicht den Ansprüchen genügten:

- In den Versuchen wurde maximal eine TZ-Konzentration von $117\,000 / \mu\text{l}$ erreicht. Laut Gerätebeschreibung des Aggregometers ist eine TZ-Konzentration von $150\,000 / \mu\text{l}$ für die Messung notwendig. Außerdem zeigten erste Vorversuche, dass TZ-Konzentrationen $< 180\,000 / \mu\text{l}$ in schlecht auswertbaren Aggregationskurven resultierten.

- TZ-Konzentrationen $< 200\ 000 / \mu\text{l}$ würden zu weit von den Werten der gesunden Probandin abweichen, um beide Aggregationskurven miteinander vergleichen zu können.
- Da jede Blutabnahme für ITP-PatientInnen eine Belastung darstellt, sollte die Anzahl der Abnahmen für die hier beschriebene ITP-Patientin möglichst gering sein. Darum war es von großem Interesse, eine Aufkonzentrierungsmethode zu verwenden, welche mit höchst möglicher Garantie zu dem gewünschten Ergebnis führt.

Da die Thrombozyten bei der Herstellung des PRP mittels Zentrifugation aller Wahrscheinlichkeit nach durch Adhäsion an der Gefäßwand der Zentrifugenbehälter verloren gingen, wurde nach einer Methode in der Literatur gesucht, welche ein höheres Maß an Aufkonzentrierung ermöglichte. Bei einer Studie [Heyns et al., 1978] wurde dem PRP vor der Zentrifugation BSA zugesetzt, um die Adhäsion zu vermeiden. Bei unseren Versuchen wurden die Zentrifugenbehälter über Nacht mit 1% BSA gecoatet. Mit den BSA gecoateten Zentrifugenbehältern konnten in weiteren Versuchen ausreichend hohe TZ-Konzentrationen von $233\ 000 \pm 10\ 000 / \mu\text{l}$, erreicht werden.

Ein Grund für die höhere Aufkonzentrierung durch die BSA gecoateten Zentrifugalbehälter war in den Vorversuchen zu finden. Durch die Zentrifugalkraft wurden die TZ gegen die Wand des Behälters gedrängt und wanderten diese entlang zu dessen Boden. Dabei ging ein Teil der TZ verloren. Je größer das Volumen der Probe war, umso größer war der Verlust an TZ in den Zentrifugalbehältern ohne BSA. Da der Durchmesser der Zentrifugalbehälter immer gleich blieb, verlängerte sich durch das größere Volumen die Wegstrecke, welche die TZ bis zum Boden des Zentrifugalbehälters zurücklegen mussten; wenn man davon ausgehen kann, dass die TZ gleichmäßig im PRP verteilt waren. Bei den mit BSA gecoateten Behältern konnten die TZ nicht so gut an der Wand anhaften und wanderten daher vermehrt an den Boden.

Dennoch blieb damit die Frage offen, ob die Methode zum Erreichen einer ausreichenden TZ-Konzentration deren Funktion beeinträchtigt. Im direkten Vergleich der Aggregationen mit und ohne Aufkonzentrierung bei derselben

Probandin, zeigte sich tatsächlich ein Verlust der TZ-Funktion nach Aufkonzentrierung. Insbesondere bei Aggregationsauslösung mittels Kollagen waren die maximale Aggregationsgeschwindigkeit und die maximal erreichte Aggregation um 25 % gegenüber der nicht aufkonzentrierten Probe verringert. Die Latenzzeit und die Zeit bis zur Maximalaggregation waren um 10 % verringert. Dass die Zeit bis zur maximal erreichten Aggregation verringert ist, kann auch durch die verringerte maximale Aggregation bedingt sein. Die maximale Aggregationsgeschwindigkeit und die maximal erreichte Aggregation waren auch bei Aggregationsauslösung mittels ADP verringert, jedoch in einem Bereich < 10%.

Damit scheint das Aufkonzentrierungsverfahren hauptsächlich Auswirkungen auf die maximale Aggregationsgeschwindigkeit und die maximale Aggregation zu haben. Dieser Funktionsverlust wurde jedoch hingenommen, da ohne Aufkonzentrierung keine Aggregometrie möglich gewesen wäre. Bei der Interpretation der Messwerte musste darauf Rücksicht genommen werden.

Da eine Möglichkeit gefunden war, ohne größere Funktionsverluste die TZ bei einer ITP-Patientin aufzukonzentrieren, konnten die Aggregationsmessungen bei der ITP-Patientin durchgeführt werden. Bei diesen Versuchen zeigten sich geringe bzw. keine Unterschiede bei der Latenzzeit gegenüber der gesunden Probandin, weder bei der Aggregationsauslösung mittels ADP noch mittels Kollagen. Jedoch waren die maximale Aggregationsgeschwindigkeit und die maximale Aggregation geringer als bei der gesunden Probandin, auch unter Berücksichtigung der oben erwähnten TZ-Funktionsverringering durch die Aufkonzentrierung.

Insgesamt deuten die Messergebnisse auf eine zusätzliche Funktionsminderung der Thrombozyten bei der ITP Patientin hin. Bereits in der Studie von Heyns konnte bei vier von acht ITP-Patientinnen eine Funktionsminderung der TZ festgestellt werden [Heyns et al., 1978]. Obwohl dies nur eine kleine Stichprobe war, scheint eine qualitative Störung der TZ-Funktion bei ITP PatientInnen keine Seltenheit zu sein.

Die in dieser Arbeit beschriebene ITP-Patientin hat trotz sehr geringer TZ-Konzentrationen nie ernsthafte Blutungskomplikationen erlitten. Daher beruhte die hier durchgeführte Studie ursprünglich auf der Hypothese, dass die TZ-Funktion bei der ITP-Patientin verbessert wäre. Die Messwerte zeigten jedoch gegenüber der gesunden Probandin eine verringerte TZ-Funktion. Das geringe Blutungsrisiko scheint zumindest bei dieser Patientin nicht an der Funktion der Thrombozyten zu liegen, sondern muss in einem anderen Teil des Gerinnungssystems gesucht werden.

In dem hier beschriebenen Fallbeispiel wird ersichtlich, wie wichtig das klinische Gesamtbild und nicht alleine die Laborwerte in der Betreuung von ITP-PatientInnen sind.

7 Literaturverzeichnis

- Aviram M, Fuhrman B, Keidar S, Maor I, Rosenblat M, Dankner G, Brook G.** *Platelet-Modified Low Density Lipoprotein Induces Macrophage Cholesterol Accumulation and Platelet Activation.* J Clin Chem Clin Biochem 1988;27: 3-12.
- Belkin A, Levy A, Sheiner E.** *Perinatal outcomes and complications of pregnancy in women with immune thrombocytopenic purpura.* J Maternal-Fetal Neonatal Med 2009;22:1081-1085.
- Bolton-Maggs P.** *Idiopathic thrombocytopenic purpura.* Arch Dis Child 2000;83: 220–222.
- Born G, Cross M.** *The Aggregation of Blood Platelets.* J Physiol 1963;168: 176-195.
- Born G.** *Aggregation of blood Platelets by adenosine diphosphate and its reversal.* Nature 1962;4832:927-929.
- Bussel J.** *Immune thrombocytopenia in pregnancy: autoimmune and alloimmune.* J Reprod Immunol 1997;37:35-61.
- Greten H.** *Innere Medizin.* 12. komplett überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.
- Herold G & Mitarbeiter.** *Innere Medizin.* Köln: Gerd Herold; 2007.
- Heyns A, Fraser J, Retief F.** *Platelet aggregation in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura.* J Clin Pathol 1978;31:1239-1243.
- Kehrel B.** *Blutplättchen: Biochemie und Physiologie.* Hämostaseologie 2003;4: 13-22.

- Kienzle P.** *Abgeschwächte Antiplättchenwirkungen von Acetylsalicylsäure (ASS) bei Patienten nach elektiven Bypass-chirurgischen Eingriffen (ACB). Die Bedeutung der Thrombozytären Cyclooxygenase-2 für die „Aspirin-Resistenz“.* Dissertation am Institut für Pharmakologie und klinische Pharmakologie der Heinrich Heine Universität Düsseldorf 2003:16-18.
- Klinke R, Silbernagl S.** *Lehrbuch der Physiologie.* 4. korrigierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2003.
- Kretschmer V, Gombotz H, Rump G.** *Transfusionsmedizin – Klinische Hämotherapie.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2008.
- Logos Laborgeräte GmbH.** *Aggregometer Elvi 840 Gebrauchsanweisung.* Hamburg: 1983.
- Lüllmann-Rauch R.** *Histologie.* Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2003.
- Marino P.** *Das ICU Buch.* 4. Auflage. München: Urban & Fischer Verlag; 2008.
- Martí-Carvajal A, Pena-Martí G, Comunian-Carrasco G.** *Medical treatments for idiopathic thrombocytopenic purpura during pregnancy (Review).* The Cochrane Library 2009;4:32-33.
- Mathias S, Gao S, Miller K, Cella D, Snyder C, Turner R, Wu A, Bussel J, George J, McMillan R, Wysocki D, Nichol J.** *Impact of chronic Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP) on health-related quality of life: a conceptual model starting with the patients perspective.* Health and Quality of Life Outcomes 2008;6:13-26.
- Michelson A, Frelinger A, Furman M.** *Current Options in Platelet Function Testing.* J Cardiol 2006;98:4-10.
- Obladen M, Maier R.** *Neugeborenenintensivmedizin.* 7. Auflage. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2006.

Scharf R. *Angeborene und erworbene Thrombozytopenien.* Hämostaseologie 2003;4:23-33.

Schmidt-Matthiesen W. *Gynäkologie und Geburtshilfe.* 10. Auflage. Stuttgart: Schattauer GmbH; 2005.

Siegenthaler W, Blum H. *Klinische Pathophysiologie.* 9., völlig neu bearbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2006.

Silbernagl S, Lang F. *Taschenatlas der Pathophysiologie.* 2. korrigierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.

Theml H, Diem H, Haferlach T. *Taschenatlas der Hämatologie.* 5., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2002.

Wikipedia, Die freie Enzyklopädie: Linse (Botanik).

[http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Linse_\(Botanik\)&oldid=73485299](http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Linse_(Botanik)&oldid=73485299)
(Abgerufen: 7. Mai 2010, 10:43 UTC).

Wikipedia, Die freie Enzyklopädie: Thrombozytenaggregometrie.

<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Thrombozytenaggregometrie&oldid=72867494> (Abgerufen: 19. April 2010, 09:36 UTC).

8 Anhang

8.1 Studienprotokoll

Studienprotokoll

Version 01

Idiopathische Thrombozytopenie (ITP) –
Fallstudie einer 48jährigen Patientin

Datum: 12. Mai 2009

Untersucher: Johanna Grabher
Studentin der Medizinische Universität Graz
Harrachgasse 21
8010 Graz

Ao. Univ.-Prof. Dr. Anna GRIES
Institut für Physiologie der MUG
Harrachgasse 21/V
8010 GRAZ

Zusammenfassung

Datum des Protokolls	12. Mai 2010
Protokolltitel	Idiopathische Thrombozytopenie (ITP) - Fallstudie einer 48jährigen Patientin
Version	01
Zielsetzungen	<ul style="list-style-type: none">• Fallaufarbeitung ITP• Pathophysiologie, Diagnose und Therapie von ITP• Erforschung des Gerinnungssystems einer ITP Betroffenen und Vergleich mit einer gleichaltrigen gesunden Frau• Vergleich der Gerinnung insbesondere der Thrombozytenaggregation unter gleichen Messbedingungen zwischen einer ITP

	Betroffenen und einer gleichaltrigen gesunden Frau
Studiendesign	<ul style="list-style-type: none"> • Messung der Gerinnung und Thrombozytenaggregation aus Blutabnahmen beider Teilnehmerinnen
Zahl der Teilnehmer	Insgesamt 2 Teilnehmerinnen
Auswahlkriterien	<ul style="list-style-type: none"> • Eine Betroffenen mit ITP seit 1986 und erniedrigten Thrombozytenzahlen • Eine gleichaltrige gesunde Frau mit normalen Thrombozytenzahlen
Dauer der Studien	Juli bis Jänner 2009

Inhaltsangabe

Zusammenfassung

Inhaltsangabe

1 Hintergrund

- 1.1 Pathophysiologie ITP
- 1.2 Fallbeschreibung
- 1.3 Thrombozytenaggregometrie

2 Studienziele

3 Studiendauer

4 Auswahlkriterien

- 4.1 Anzahl der teilnehmenden Personen
- 4.2 Einschlußkriterien

5 Studiendesign

1 Hintergrund

1.1 Pathophysiologie ITP

Bei ITP handelt es sich um eine erworbene Thrombozytopenie ohne eine erbliche Komponente. Man unterscheidet eine akute Form, die bevorzugt bei Kindern auftritt, und eine chronische Form, die bevorzugt bei Erwachsenen vorkommt.

Nach der Definition handelt es sich um eine chronische Verlaufsform wenn eine ITP länger als 6 Monate bestehen bleibt. Es handelt sich um die häufigste immunologisch bedingte symptomatische Thrombozytopenie.

Aus bisher unbekannter Ursache kommt es zur Bildung von Autoantikörpern gegen Thrombozytenrezeptoren. Insbesondere sind davon die Glykoproteinkomplexe GPIIb/IIIa, GPIb/IX/V bzw. GPIa/IIa betroffen. Dadurch kommt es zu einer vermehrten Phagozytose der Thrombozyten im Monozyten/Makrophagensystem. So kommt es zu einer isolierten Thrombozytopenie.

Thrombozyten entstehen im Knochenmark, wo sie sich von Megakaryozyten abschnüren. Normale Werte bewegen sich zwischen 150.000 bis 380.000 / μ l. Die Entwicklung von Thrombozyten wird von Thrombopoetin stimuliert, welches in Leber, Niere und Stromazellen des Knochenmarks gebildet wird. Bei einer Endothelverletzung kommt es zu Kontakt zwischen Thrombozyten und Kollagenfasern, was zur Aktivierung, Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten führt.

Typische Symptome der ITP sind petechiale Blutungen in Stecknadel- bis Linsengröße, spontane Blutungen treten erst ab einer Thrombozytenzahl unter 10.000/ μ l auf.

1.2 Fallbeschreibung

Bei der Betroffenen, deren Fall in der Studie erforscht werden soll, wurde vor 22 Jahren ITP diagnostiziert. Mit dieser Erkrankung wurde sie noch zweimal schwanger und bekam ohne Komplikationen zwei gesunde Kinder. Auch kam es trotz anhaltender Thrombozytenzahlen unter 10.000/ μ l zu keinen nennenswerten Blutungen. Dies macht ihren Fall für eine Aufarbeitung interessant, insbesondere die Thrombozytenaggregation wird gemessen.

1.3 Thrombozytenaggregometrie

Die Thrombozytenaggregometrie ist ein Labortest zur Überprüfung der Thrombozytenfunktion. Dabei wird zuerst ein plättchenreiches Plasma gewonnen und ein Antikoagulant zugeführt. Über die Zunahme der Lichtdurchlässigkeit der Probe im Analysegerät bedingt durch die einsetzende Aggregation durch Zugabe eines Agonisten (ADP oder Kollagen) kann auf die Thrombozytenfunktion rückgeschlossen werden. Da keine standardisierte kommerzielle Kontrolle

erhältlich ist, sollt immer ein gesunder Spender, der auch keine Thrombozytenaggregationshemmer eingenommen hat, mit getestet werden.

2 Studienziele

- Fallaufarbeitung ITP
- Pathophysiologie, Diagnose und Therapie von ITP
- Erforschung des Gerinnungssystems einer ITP Betroffenen und Vergleich mit einer gleichaltrigen gesunden Frau
- Vergleich der Gerinnung insbesondere der Thrombozytenaggregation unter gleichen Messbedingungen zwischen einer ITP Betroffenen und einer gleichaltrigen gesunden Frau

3 Studiendauer

Der geplante Studienbeginn ist im Juli 2009. Die Labortests sollten bis Oktober 2009 abgeschlossen sein. Die Publikation der Studie sollte im November 2009 erfolgen.

4 Auswahlkriterien

4.1 Anzahl der teilnehmenden Personen

Teilnehmen werden insgesamt zwei Frauen im Alter von 48 bis 49 Jahren (eine ITP Betroffene und 1 gesunde Kontrollteilnehmerin).

4.2 Einschlußkriterien

Eine ITP Betroffene mit erniedrigten Thrombozytenzahlen sowie zur Kontrolle eine gleichaltrige gesunde Frau mit normalen Thrombozytenzahlen.

5 Studiendesign

- Thrombozytenaggregometrie beider Teilnehmerinnen
- Durchführung der Messungen unter gleichen Laborbedingungen
- Vergleich der erhobenen Werte miteinander

6 Referenzen

- 1) Klinke R, Silbernagl S: Lehrbuch der Physiologie. 4. korrigierte Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2003. S 209 – 211.
 - 2) Greten H: Innere Medizin. 12. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005. S 326 – 328.
 - 3) Wikipedia, Die freie Enzyklopädie: „Thrombozytenaggregometrie“ .
<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Thrombozytenaggregometrie&oldid=60101636> (Abgerufen: 27. Mai 2009, 11:18 UTC)
 - 4) Wikipedia, Die freie Enzyklopädie: „Thrombopoetin“ .
<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Thrombopoetin&oldid=56183244> (Abgerufen: 27. Mai 2009, 11:42 UTC)
-

8.2 Einwilligungserklärung

*Patienteninformation und Einwilligungserklärung
zur Teilnahme an der klinischen Studie
Idiopathische Thrombozytopenie (ITP) –
Fallstudie einer 48-jährigen Patientin*

Sehr geehrte Teilnehmerin!

Wir laden Sie ein an der oben genannten klinischen Studie teilzunehmen. Die Aufklärung darüber erfolgt in einem ausführlichen ärztlichen Gespräch.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung erfolgt freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen aus der Studie ausscheiden. Die Ablehnung der Teilnahme oder ein vorzeitiges Ausscheiden aus dieser Studie hat keine nachteiligen Folgen für Ihre medizinische Betreuung.

Klinische Studien sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung einer klinischen Studie ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser klinischen Studie schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrem Arzt sorgfältig durch und zögern Sie nicht Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf der klinischen Studie vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmer an dieser klinischen Studie im klaren sind.

Zu dieser klinischen Studie, sowie zur Patienteninformation und Einwilligungserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission eine befürwortende Stellungnahme abgegeben.

1. Was ist der Zweck der klinischen Studie?

Der Zweck dieser klinischen Studie ist der Vergleich des Gerinnungssystems, insbesondere der Thrombozytenaggregation, einer 48jährigen Frau mit ITP mit einer gleichaltrigen gesunden Frau.

2. Wie läuft die klinische Studie ab?

Diese klinische Studie wird an einem Orten durchgeführt, und es werden insgesamt 2 Personen daran teilnehmen.

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Studie wird voraussichtlich 16 Wochen dauern.

Folgende Maßnahmen werden ausschließlich aus Studiengründen durchgeführt:

Während dieser klinischen Studie werden im Abstand von 4 *Wochen* die folgenden Untersuchungen durchgeführt: *Blutproben entnommen*. Sie werden gebeten, hierzu jeweils in die Medizinische Universität zu kommen. Insgesamt sind 4 Besuche notwendig. Die Einhaltung der Besuchstermine, einschließlich der Anweisungen des Prüfarztes ist von entscheidender Bedeutung für den Erfolg dieser klinischen Studie.

3. Worin liegt der Nutzen einer Teilnahme an der Klinischen Studie?

Es ist nicht zu erwarten, dass Sie aus Ihrer Teilnahme an dieser klinischen Studie gesundheitlichen Nutzen ziehen werden, jedoch die Erfahrung an einer Studie teilgenommen zu haben und eine bessere Kenntnis der eigenen Gesundheit bzw. Krankheit.

Für die Zukunft kann die Studie jedoch der Wegbereiter für größer Studien genutzt werden.

4. Gibt es Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen?

Es können die im Rahmen dieser klinischen Studie durchgeführten Maßnahmen zu Beschwerden führen (z.B. *Schmerzen und/oder Hämatom bei der Blutentnahme*) oder sogar mit Risiken behaftet sein.

Das Risiko einer Blutabnahme ist die Entstehung eines Hämatoms („blauer Fleck“) und damit verbundene Schmerzen im Bereich der Einstichstelle sowie sehr selten eine Schädigung des Nerven im Bereich der Einstichstelle.

Insbesondere bei ITP ist das Risiko für ein Hämatom aufgrund der erniedrigten Thrombozytenzahlen erhöht.

5. Zusätzliche Einnahme von Arzneimitteln?

Im Rahmen der Studie dürfen keine gerinnungshemmenden Medikamente (z.B. Aspirin, Marcoumar etc.) eingenommen werden. Bitte informieren Sie die Studienverantwortlichen über ihre aktuelle Medikation.

6. Hat die Teilnahme an der klinischen Studie sonstige Auswirkungen auf die Lebensführung und welche Verpflichtungen ergeben sich daraus?

Bis auf die zu investierende Zeit bestehen keine weiteren Einschränkungen durch die Teilnahme an der Studie.

7. Was ist zu tun beim Auftreten von Symptomen, Begleiterscheinungen und/oder Verletzungen?

Sollten im Verlauf der klinischen Studie irgendwelche Symptome, Begleiterscheinungen oder Verletzungen auftreten, müssen Sie diese Ihrem Arzt mitteilen, bei schwerwiegenden Begleiterscheinungen umgehend, ggf. telefonisch (Telefonnummern, etc. siehe unten).

8. Wann wird die klinische Studie vorzeitig beendet ?

Sie können jederzeit auch ohne Angabe von Gründen, Ihre Teilnahmebereitschaft widerrufen und aus der klinischen Studie ausscheiden ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile für Ihre weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ihr Prüfarzt wird Sie über alle neuen Erkenntnisse, die im Bezug auf diese klinische Studie bekannt werden, und für Sie wesentlich werden könnten, umgehend informieren. Auf dieser Basis können Sie dann Ihre Entscheidung zur **weiteren** Teilnahme an dieser klinischen Studie neu überdenken.

Es ist aber auch möglich, dass Ihr Prüfarzt entscheidet, Ihre Teilnahme an der klinischen Studie vorzeitig zu beenden, ohne vorher Ihr Einverständnis einzuholen. Die Gründe hierfür können sein:

- Sie können den Erfordernissen der Klinischen Studie nicht entsprechen;
- Ihr behandelnder Arzt hat den Eindruck, dass eine weitere Teilnahme an der klinischen Studie nicht in Ihrem Interesse ist;

9. In welcher Weise werden die im Rahmen dieser klinischen Studie gesammelten Daten verwendet ?

Sofern gesetzlich nicht etwas anderes vorgesehen ist, haben nur die Prüfer und deren Mitarbeiter Zugang zu den vertraulichen Daten, in denen Sie namentlich genannt werden. Diese Personen unterliegen der Schweigepflicht.

Die Weitergabe der Daten erfolgt ausschließlich zu statistischen Zwecken und Sie werden ausnahmslos darin nicht namentlich genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieser klinischen Studie werden Sie nicht namentlich genannt.

10. Entstehen für die Teilnehmer Kosten?

Durch Ihre Teilnahme an dieser klinischen Studie entstehen für Sie keine zusätzlichen Kosten.

11. Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit dieser klinischen Studie stehen Ihnen Ihr Prüfarzt und seine Mitarbeiter gern zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Patient und Teilnehmer an dieser klinischen Studie betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Name der Kontaktperson: Johanna Grabher, cand. med.

Ständig erreichbar unter: 0699 11515554

Name der Kontaktperson: Gries, Anna, ao.Univ.-Prof. Dr. phil.

Ständig erreichbar unter: 0316 380 4492

12. Sollten andere behandelnde Ärzte von der Teilnahme an der klinischen Studie informiert werden?

Es liegt Ihnen frei Ihre behandelnden Ärzte über die Teilnahme an der Studie zu informieren. Die Teilnahme an der Studie hat keinen Einfluss auf Behandlungsentscheidungen.

13. Einwilligungserklärung

Ich erkläre mich bereit, an der klinischen Studie **Idiopathische Thrombozytopenische Purpura (ITP) - Fallstudie einer 48-jährigen Patientin** teilzunehmen.

Ich bin von Frau Grabher Johanna ausführlich und verständlich über mögliche Belastungen und Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Studie, sich für mich daraus ergebenden Anforderungen aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser Patientenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 5 Seiten umfasst gelesen. Aufgetretene Fragen wurden mir vom Prüfarzt verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zur Zeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich werde den ärztlichen Anordnungen, die für die Durchführung der klinischen Studie erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser klinischen Studie ermittelten Daten aufgezeichnet werden. Um die Richtigkeit der Datenaufzeichnung zu überprüfen, dürfen Beauftragte des Auftraggebers und der zuständigen Behörden beim Prüfarzt Einblick in meine personenbezogenen Krankheitsdaten nehmen.

Beim Umgang mit den Daten werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes beachtet.
