

**Prädiktive Parameter für die Isolierung von Thrombozyten  
aus Vollblut bei Patienten mit Immunthrombozytopenie  
zur Diagnostik im direkten monoklonalen Antikörper-  
Immobilisationstest für plättchenspezifische Antigene  
(MAIPA)**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Jakob Michael  
aus Forchheim

Gießen 2024

**Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Institut für Klinische Immunologie, Transfusionsmedizin und Hämostaseologie  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Sachs, Ulrich  
Gutachter: Prof. Dr. Dr. Klenk, Christoph

Tag der Disputation: 04.03.2025

Die hier verwendeten Personenbezeichnungen beziehen sich immer gleichermaßen - sofern nicht anders kenntlich gemacht - auf weibliche, männliche und anderweitige Geschlechteridentitäten. Auf eine Doppelnennung und gegenderte Bezeichnungen wird zugunsten einer besseren Lesbarkeit verzichtet.

# Inhaltsverzeichnis

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 Einleitung</b> .....  | <b>6</b>  |
| 1.1 Immunthrombozytopenie (ITP) .....                                  | 6         |
| 1.1.1 Definition, Ätiologie und Epidemiologie.....                     | 6         |
| 1.1.2 Pathophysiologie .....   | 7         |
| 1.1.3 Klinisches Bild .....  | 9         |
| 1.1.4 Diagnostik und Differentialdiagnostik.....                       | 11        |
| 1.1.5 Therapie und Prognose .....                                      | 13        |
| 1.2 Nachweis von Thrombozytenantikörpern durch den direkten MAIPA..... | 18        |
| 1.3 Bezug der Immunthrombozytopenie zur Zahnmedizin .....              | 20        |
| <b>2 Zielsetzung der Studie</b> .....                                  | <b>23</b> |
| <b>3 Material und Methodik</b> .....                                   | <b>24</b> |
| 3.1 Datensammlung .....  | 24        |
| 3.2 Ethikvotum .....   | 25        |
| 3.3 Anzahl der Testansätze.....  | 25        |
| 3.4 Einschlusskriterien.....   | 25        |
| 3.5 Statistische Methoden .....  | 26        |
| <b>4 Ergebnis</b> .....  | <b>27</b> |
| 4.1 Beschreibung der Stichprobe .....                                  | 27        |
| 4.1.1 Alter und Geschlecht der Patientengruppe .....                   | 27        |
| 4.1.2 Laborchemische Angaben .....                                     | 28        |
| 4.2 Univariate Regressionsanalyse der Parameter.....                   | 30        |
| 4.2.1 Zeitintervall.....   | 31        |
| 4.2.2 Patientenalter .....   | 32        |
| 4.2.3 Thrombozytenzahl.....  | 33        |
| 4.2.4 Blutvolumen.....   | 34        |
| 4.2.5 Hämatokritwert .....   | 35        |
| 4.2.6 Geschlecht .....   | 36        |
| 4.3 Multivariate Regressionsanalyse der Parameter.....                 | 40        |

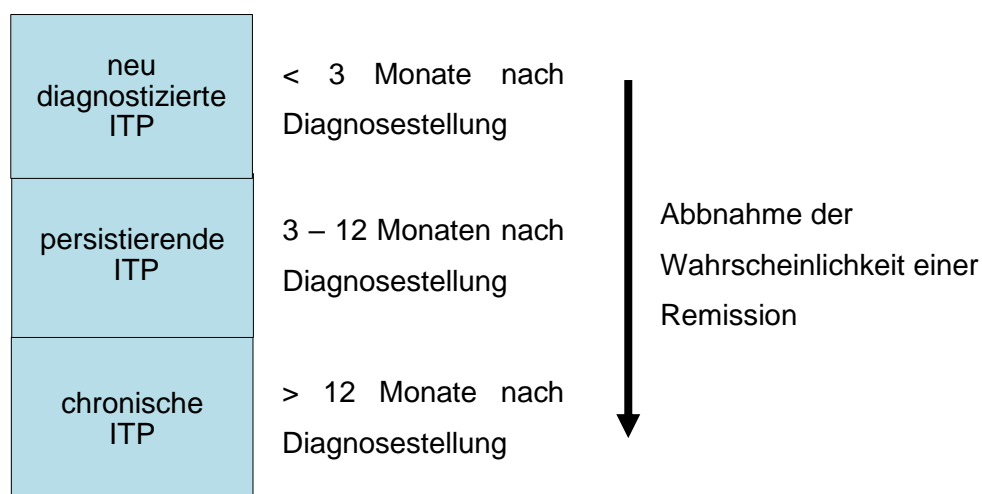
|  |           |
|--|-----------|
| 4.4 Auswertung mit dichotomen Prädiktoren .....                    | 41        |
| 4.4.1 Dichotome Auswertung des Zeitintervalls .....                | 41        |
| 4.4.2 Dichotome Auswertung des Blutvolumens.....                   | 42        |
| 4.4.3 Dichotome Auswertung der Thrombozytenzahl .....              | 44        |
| 4.4.4 Kombinierte dichotome Auswertung der Parameter.....          | 45        |
| <b>5 Diskussion .....</b>  | <b>48</b> |
| 5.1 Parameter mit geringem Einfluss auf den direkten MAIPA.....    | 49        |
| 5.2 Parameter mit bedeutendem Einfluss auf den direkten MAIPA..... | 50        |
| 5.3 Fazit .....  | 55        |
| <b>6 Zusammenfassung.....</b>                                      | <b>57</b> |
| <b>7 Summary.....</b>  | <b>58</b> |
| Abbildungsverzeichnis.....   | 59        |
| Tabellenverzeichnis.....   | 60        |
| Literaturverzeichnis.....  | 61        |

# 1 Einleitung

## 1.1 Immunthrombozytopenie (ITP)

### 1.1.1 Definition, Ätiologie und Epidemiologie

1735 berichtete der Mediziner Paul Gottlieb Werlhoff von einem Mädchen, das nach einer durchgestandenen Infektionskrankheit Symptome von unregelmäßigen Haut- und Schleimhautblutungen zeigte. Er beschrieb damit den ersten klassischen Fall der Immunthrombozytopenie (ITP), weswegen das Krankheitsbild der ITP auch unter dem Begriff Morbus Werlhoff bekannt ist. Nach aktuellem Stand der Forschung ist die ITP als eine erworbene Erkrankung definiert, bei der es zu einer Autoimmunreaktion gegen Thrombozyten und Megakaryozyten kommt. Die Folge ist eine vorübergehende oder auch persistierende Thrombozytopenie mit einer Thrombozytenanzahl unter  $100.000 / \mu\text{L}$  (Rodeghiero et al. 2009; Stasi et al. 2011). Die ITP lässt sich dabei in eine primäre und eine sekundäre Form unterteilen. Bei der primären ITP ist keine auslösende Ursache erkennbar, wohingegen bei der sekundären ITP Medikamente, Autoimmunerkrankungen, das Antiphospholipid-Syndrom, Immundefizienz-Syndrome, das Evans-Syndrom, Impfungen (z.B. Masern, Mumps, Röteln (MMR), Windpocken, Hepatitis A und Tetanus-Diphtherie-azelluläre Pertussis (O'Leary et al. 2012)) oder auch Infektionen mit HIV oder Hepatitis C für die Erkrankung verantwortlich gemacht werden können (primäre ITP etwa 80 %, sekundäre ITP etwa 20%) (Cines et al. 2009; Moulis et al. 2017). Außerdem lässt sich die ITP anhand ihrer Dauer seit der Diagnosestellung wie folgt unterteilen (siehe Abbildung 1):



**Abbildung 1:** Einteilung der ITP anhand der Dauer seit Diagnosestellung (nach Rodeghiero 2009)

Hinsichtlich der Inzidenz und Prävalenz zeigen sich zwischen Erwachsenen und Kindern bzw. Jugendlichen Unterschiede. Bei Erwachsenen beträgt die Inzidenz 1,6 bis 4,5 Neuerkrankungen pro 100.000 / Jahr (Abrahamson et al. 2009), wohingegen dieser Wert bei Kindern und Jugendlichen etwa 5,3 Neuerkrankungen pro 10.000 / Jahr entspricht (Zeller et al. 2000). Deutlichere Unterschiede zeigen sich bezüglich der Prävalenz. Diese liegt bei Erwachsenen zwischen 8 und 38 pro 100.000 (Feudjo-Tepie et al. 2008) und bei Kindern/Jugendlichen bei 4,6 pro 100.000 (Hedman et al. 1997). Die signifikant niedrigere Prävalenz bei Kindern und Jugendlichen könnte möglicherweise darauf zurückzuführen sein, dass die pädiatrische ITP seltener (20 – 30 %) in eine chronische Form übergeht, als die adulte ITP (ca. 60 %) (Matzdorff et al. 2021). Folglich hat sie häufig einen selbstlimitierenden Verlauf. Frederiksen et al., sowie Schoonen et al. zeigten, dass die Inzidenzrate mit zunehmendem Alter steigt und Frauen häufiger erkranken als Männer. Dabei entspricht das Verhältnis von Frauen zu Männern innerhalb aller Altersgruppen 1,7:1. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass das mittlere Erkrankungsalter 56 Jahre beträgt, wobei Frauen im Durchschnitt mit 55,6 Jahren und Männer mit 61,6 Jahren erkranken (Frederiksen et al. 1999; Schoonen et al. 2009). Allerdings scheint es in den letzten Jahren einen Trend hin zu einem höheren Erkrankungsalter, um die 60 Jahre, zu geben (Matzdorff et al. 2023).

### **1.1.2 Pathophysiologie**

Im Wesentlichen lassen sich drei Pathomechanismen beschreiben, die bei ITP-Patienten häufig beobachtet werden können. Diese müssen nicht zwangsläufig gleichzeitig auftreten, haben jedoch allesamt ein gestörtes Gleichgewicht zwischen Produktion und Abbau der Thrombozyten zur Folge. Daraus resultiert eine herabgesetzte Thrombozytenanzahl im Körper (Kashiwagi et al. 2013; Matzdorff et al. 2021).

In den 1950er Jahren konnte Harrington et al. die immunologische Ätiologie der ITP nachweisen. Im Rahmen ihrer Studie induzierten sie eine vorübergehende Thrombozytopenie bei zuvor gesunden Probanden, indem sie ihnen Blutplasma verabreichten, welches von ITP-Patienten stammte (Harrington et al. 1951). Darauf aufbauende Forschung konnte in der Folge zeigen, dass es sich bei den verantwortlichen Plasmafaktoren vor allem um IgG-Antikörper gegen Glykoproteine handelt, die sich auf der Thrombozytenoberfläche befinden. Bei etwa 60 % aller ITP-Patienten sind Antikörper gegen Thrombozyten nachweisbar. Als wichtigste Zielstrukturen dieser Antikörper konnten die Glykoproteine IIb/IIIa, Ib/IX und V nachgewiesen werden (Stoy et al. 2012; Porcelijn et al. 2018). Thrombozyten, an denen Antikörper binden, sind zur Phagozytose durch weitere Immunzellen markiert.

Makrophagen nehmen diese über Fc-Rezeptoren auf und eliminieren sie durch lysosomalen Abbau. Hauptort des Thrombozytenabbaus ist dabei die Milz. Ein kleiner Anteil wird jedoch auch in der Leber und dem Knochenmark abgebaut (Kuwana et al. 2002).

Es hat sich gezeigt, dass eine Therapie, die sich speziell gegen B-Lymphozyten und die entsprechenden Antikörper richtet, nicht zwangsläufig bei allen ITP-Patienten zu einem Anstieg der Thrombozytenzahl führt. Folglich muss es weitere Mechanismen geben, die eine Thrombozytopenie begünstigen (Matzdorff et al. 2018). T-Zell-Anomalien konnten ebenfalls mit der Pathogenese der ITP in Verbindung gebracht werden. So wurden autoreaktive T-Zellen bei chronischen ITP-Patienten nachgewiesen, die sich gegen GP IIb/IIIa richten (Kuwana et al. 1998). Bei dieser Patientengruppe konnte außerdem gezeigt werden, dass die Anzahl an Th-17-Zellen und der IL-17-Spiegel erhöht sein können (Hu et al. 2011). Dies ist eine Fehlregulation, welche sich häufiger bei Autoimmunerkrankungen finden lässt. Eine ganz wesentliche Rolle wird auch den regulatorischen T-Zellen (Treg) zugeschrieben. Diese besitzen innerhalb des Immunsystems die Funktion, eine überschießende Immunreaktion zu hemmen bzw. nach erfolgter Reaktion die Fortsetzung der Immunantwort zu unterbinden. Tregs werden dabei antigenspezifisch aktiviert und sezernieren daraufhin Zytokine (z.B. IL-10), wodurch die Aktivierungsschwelle anderer Immunzellen erhöht und deren Aktivität somit herabgesetzt wird (Sakaguchi 2005). Mehrere Studien konnten eine Verringerung der Anzahl bzw. zumindest der Funktion von Tregs bei ITP-Patienten darstellen (Sakakura et al. 2007; Yu et al. 2008). Nishimoto et al. wiesen innerhalb eines Laborexperimentes nach, dass etwa 36 % Treg-defizienter Mäuse eine Thrombozytopenie entwickelten, die über mehrere Wochen anhielt. Durch den Transfer von isolierten Tregs in die Mäuse konnte eine Thrombozytopenie verhindert werden (Nishimoto et al. 2012; Nishimoto et al. 2013).

Wie alle Blutzellen entwickeln sich Megakaryozyten im Knochenmark aus hämatopoetischen Stammzellen und können als eine Vorläuferzelle der Thrombozyten gesehen werden. Sie durchlaufen dabei mehrere Reifestadien (Stadium I: Megakaryoblast, Stadium II: Promegakaryozyt, Stadium III: Megakaryozyt), bis es schließlich durch zytoplasmatische Abschnürung zur Entstehung der anukleären Blutplättchen kommt. Ein einzelner Megakaryozyt kann dabei bis zu 1000 Thrombozyten generieren. Eine wesentliche Funktion während dieses Reifeprozesses spielt das Zytokin Thrombopoietin (TPO). Es wird in der Leber gebildet und fördert die Bildung, Differenzierung und Ausreifung der Megakaryozyten (Miyazaki et al. 1999; Akkerman 2006). Reguliert wird der TPO-Spiegel im Plasma durch den Verbrauch von TPO, indem es an TPO-Rezeptoren auf der Oberfläche von Thrombozyten und

Megakaryozyten bindet. Physiologischerweise steigt also der TPO-Spiegel, wenn die Anzahl an Thrombozyten verringert ist (Kashiwagi et al. 2013). Verglichen mit gesunden Menschen weisen ITP-Patienten in diesem Zusammenhang zwar häufig einen normalen bzw. auch leicht erhöhten TPO-Spiegel auf, allerdings ist dieser nicht so deutlich erhöht, wie es bei anderen Erkrankungen mit einem vergleichbaren Thrombozytenmangel der Fall ist (z.B. aplastische Anämie, nach Chemotherapie) (Emmons et al. 1996). Daher kann in diesem Zusammenhang von einem relativen TPO-Mangel bei ITP-Patienten gesprochen werden. Es ist wahrscheinlich, dass dieser Mangel darauf zurückzuführen ist, dass Thrombopoietin an Thrombozyten bindet und mit diesen in der Milz abgebaut wird (Fielder et al. 1996). Ein weiterer Grund für die gestörte Thrombozytopoese können morphologische Veränderungen der Megakaryozyten sein. Diese konnten schon in den 1940er Jahren lichtmikroskopisch bei chronischen ITP-Patienten beobachtet werden und äußern sich beispielsweise dadurch, dass die Anzahl unreifer Megakaryozyten zunimmt, die Produktion der Thrombozyten beeinträchtigt ist oder der Zellkern degenerative Veränderungen aufweist (McMillan 2007). Houwerzijl et al. untersuchten dies innerhalb einer Studie, bei der eine Ultrastrukturanalyse der Megakaryozyten von elf ITP-Patienten gemacht wurde. Dabei konnten bei 78 % der Patienten morphologische Veränderungen gefunden werden, wobei 90 % dieser abnormen Megakaryozyten ultrastrukturelle Merkmale der Apoptose bzw. Para-Apoptose aufwiesen (Houwerzijl et al. 2004). Eine Ursache für diese Anomalien sind unter anderem Autoantikörper gegen GP Ib/IX und GP IIb/IIIa, die nicht nur die Oberfläche von Thrombozyten angreifen, sondern auch Megakaryozyten beeinträchtigen können. Dies führt zu einer Störung der Produktion von Thrombozyten und resultiert in einer Thrombozytopenie (McMillan et al. 2004).

### **1.1.3 Klinisches Bild**

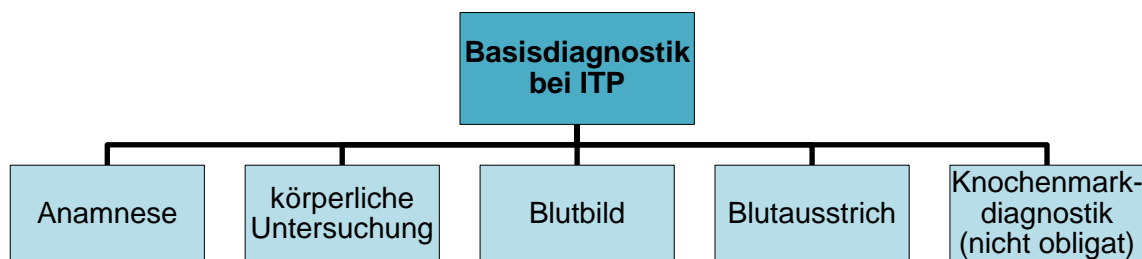
Das vorherrschende Symptom der Immunthrombozytopenie ist, verursacht durch den Thrombozytenmangel, die hämorrhagische Diathese. Diese zeigt sich in Form von Petechien, welche besonders im Bereich der Beine auftreten, durch Blutungen der Mund- und Nasenschleimhäute und eine vermehrte Bildung von Hämatomen, selbst bei geringer Krafteinwirkung auf das Gewebe. Außerdem kann es bei Frauen zu verstärkten Menstruationsblutungen kommen. Innere Blutungen (z.B. intrazerebrale Blutungen, Blutungen im Magen-Darm-Trakt) sind zwar selten (intrazerebrale Blutungen < 1 – 1,5 % (Hallan et al. 2022)), weisen jedoch eine hohe Letalität auf (Butros et al. 2003; Matzdorff et al. 2018). So konnten Hallan et al. in ihrer Studie, bei der sie ITP-Patienten mit intrazerebralen Blutungen untersuchten, zeigen, dass die Gesamtsterblichkeitsrate innerhalb dieser Patientengruppe bei etwa 34 % liegt (Hallan et al. 2022). Die genannten

Symptome treten nicht zwangsläufig allesamt im Falle einer ITP-Erkrankung auf, vielmehr berichten manche Patienten sogar nur über eines der genannten Blutungszeichen. Der Krankheitsverlauf der ITP zeigt Unterschiede bezüglich der Blutungssymptome. So weisen bei einer neu diagnostizierten ITP 10 % der pädiatrischen und etwa 20 – 30 % der erwachsenen Patienten keinerlei Blutungssymptome auf. Bei der chronischen Immunthrombozytopenie liegt der Anteil der Patienten ohne Blutungen sogar bei 30 – 40 % (Grimaldi-Bensouda et al. 2016; Matzdorff et al. 2018). Es ist anzumerken, dass erwachsene ITP-Patienten, die älter als 60 Jahre sind und bereits frühere hämorrhagische Ereignisse hatten, ein besonders hohes Risiko für schwere Blutungen aufweisen (Cortelazzo et al. 1991). Entscheidend für das Ausmaß der Blutungen ist weiterhin die Thrombozytenzahl. Patienten mit mehr als 50.000 Thrombozyten /  $\mu\text{L}$  bleiben häufig ohne Blutungssymptome, wohingegen ab einer Thrombozytenzahl unter 20.000 Thrombozyten /  $\mu\text{L}$  das Risiko für schwere Blutungen deutlich steigt (Khellaf et al. 2005). Jedoch können diese Grenzwerte individuellen Schwankungen unterliegen und sollten lediglich als grobe Referenz gesehen werden.

Neben den auftretenden Blutungen sind weitere Symptome bei einer Immunthrombozytopenie zu beobachten. So haben ITP-Patienten ein erhöhtes Risiko an Infektionskrankheiten, wie zum Beispiel einer Candidiasis oder einer Virusinfektion, zu erkranken. Nicht selten kommt es in diesem Zusammenhang auch zu einer leichten Splenomegalie. Die erhöhte Infektionsgefahr resultiert zum einen aus gewissen Therapieansätzen der ITP (z.B. immunsuppressive Therapien oder Splenektomie) (Ekstrand et al. 2016; Matzdorff et al. 2018). Zum anderen konnte gezeigt werden, dass den Thrombozyten, neben der Blutgerinnung, auch ein Mitwirken innerhalb der angeborenen und adaptiven Immunantwort zugesprochen werden kann (Semple et al. 2011). Symptome, die häufig von ITP-Patienten beschrieben werden, sind allgemeine Erschöpfung, Müdigkeit, kognitive Einschränkungen und depressive Störungen (Ahn et al. 2002; Frith et al. 2012). Die genannten Erkrankungszeichen machen, je nach individuellem Ausmaß, den Alltag für die Patienten häufig sehr schwierig und schränken sie stark ein. McMillan et al. konnten innerhalb einer Studie zeigen, dass die gesundheitsbezogene Lebensqualität von erwachsenen ITP-Patienten signifikant schlechter ist, als die der allgemeinen Bevölkerung (McMillan et al. 2008).

### 1.1.4 Diagnostik und Differentialdiagnostik

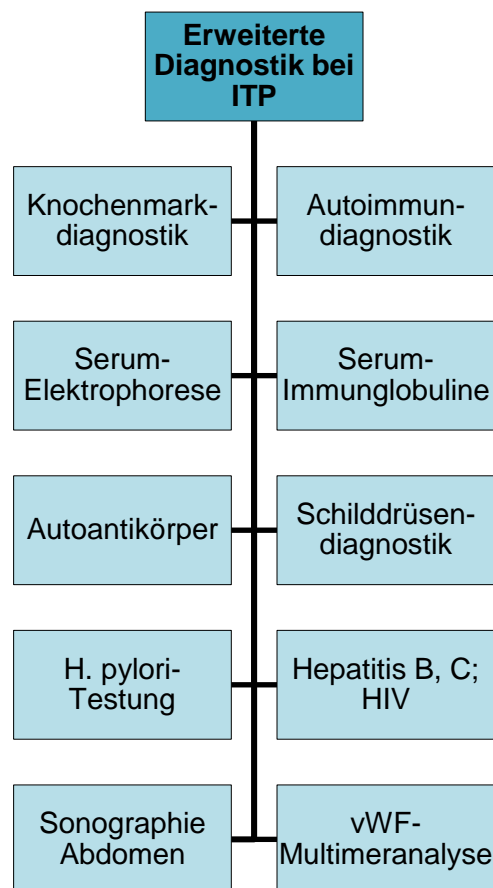
Innerhalb der Diagnostik der Immunthrombozytopenie wird oft behauptet, dass es sich bei der ITP um eine Ausschlussdiagnose handelt. Folglich müssen andere Erkrankungen, die sehr ähnliche Symptome aufweisen, schrittweise ausgeschlossen werden. Daher ist es unerlässlich, die Diagnose der ITP in mehreren Schritten und ausschließlich durch einen in der Diagnostik und Therapie der Immunthrombozytopenie erfahrenen Arzt stellen zu lassen. In der Regel wird durch Hausärzte, im Rahmen einer Routineuntersuchung oder auf Grund von spontanen Blutungen, der mögliche Verdacht einer Immunthrombozytopenie geäußert. Um die Vermutung der ITP in der Folge zu sichern, empfiehlt es sich, zunächst eine Basisdiagnostik durchzuführen (Matzdorff et al. 2018). Dabei sollten folgende Parameter untersucht und erhoben werden (siehe Abbildung 2):



**Abbildung 2:** Basisdiagnostik bei Verdacht einer ITP (nach Matzdorff 2018)

Differenzialdiagnostisch müssen andere mögliche Erkrankungen ausgeschlossen werden. Mit einer Prävalenz von 0,11 – 0,27 % der Allgemeinbevölkerung bei EDTA ist beispielsweise eine Pseudothrombozytopenie zu nennen (Bizzaro 1995; Froom et al. 2011). Diese führt durch Thrombozytenagglutination im EDTA-Blut fälschlicherweise zu einer Thrombozytopenie und ist daher ohne Krankheitswert (Lardinois et al. 2021). Bei Kindern ist außerdem an eine hereditäre Thrombozytopenie, bei schwangeren Patientinnen an eine schwangerschaftsassozierte Thrombozytopenie (7 – 10 % der Schwangeren entwickeln eine leichte Thrombozytopenie (Myers 2012)) zu denken (Matzdorff et al. 2018). Die medikamenten-induzierte Thrombozytopenie ist dabei ebenfalls eine wichtige Differentialdiagnose. Neylon et al. konnten in einer Kohortenstudie von 343 ITP-Patienten zeigen, dass es sich bei 8 % der Patienten um eine medikamenten-induzierte Thrombozytopenie handelte (Neylon et al. 2003).

Medikamente, die eine solche Thrombozytopenie verursachen können, sind z.B. Heparin, Abciximab, Rifampicin, Paracetamol oder Chinin. Dass in diesem Zusammenhang eine besonders explizite Anamnese erfolgen muss, zeigt das Beispiel Chinin. Dies ist ein Bitterstoff, welcher unter anderem in bitteren Getränken zugesetzt ist. So findet es sich häufig in Tonic Water oder auch Limonaden. Durch Absetzen derartiger Medikamente erholt sich die Thrombozytenanzahl in etwa vier bis acht Tagen, wodurch eine ITP ausgeschlossen werden kann (George et al. 2009; Aster et al. 2009). Bei einer persistierenden oder chronischen Immunthrombozytopenie müssen weitere Differentialdiagnosen erwogen werden, die zusätzliche diagnostische Maßnahmen fordern und somit die Untersuchung erweitern (siehe Abbildung 3). In Kapitel 1.2 soll diesbezüglich besonders auf den Nachweis von Thrombozyten-Autoantikörpern und den MAIPA-Assay eingegangen werden.



**Abbildung 3:** *Erweiterte Diagnostik bei Verdacht einer ITP (nach Matzdorff 2018)*

### 1.1.5 Therapie und Prognose

Die isolierte Betrachtung der Thrombozytenzahl, um das Therapieziel – die Ausheilung der Erkrankung bzw. das Verhindern lebensbedrohlicher Blutungen – bei der Behandlung einer diagnostizierten Immunthrombozytopenie zu erreichen, gilt mittlerweile als veraltet. So beziehen neuere Therapiekonzepte (siehe Abbildung 4) weitere individuelle Faktoren ein, wodurch die Therapie der ITP vielfältig und patientenbezogen wird. Neben der Thrombozytenzahl und der Blutungsneigung sind dies beispielsweise der bisherige Krankheitsverlauf, potentielle Therapienebenwirkungen, Konsequenzen für Beruf und Ausbildung, ein erhöhtes Verletzungsrisiko (z.B. Beruf, Freizeitaktivitäten), das Patientenalter oder auch Nebenerkrankungen und damit verbundene Medikationen (Provan et al. 2019). Dennoch hat die Thrombozytenzahl immer noch einen besonders wichtigen Aussagewert, da das Blutungsrisiko bei einer Thrombozytenzahl unter 20.000 – 30.000 Thrombozyten /  $\mu$ l deutlich steigt (Piel-Julian et al. 2018). Die genannten Faktoren müssen daher genauestens geprüft und abgewogen werden, um zu entscheiden, ob eine aktive Behandlung sinnvoll erscheint. Dabei ist eine umfangreiche Aufklärung und die Einbeziehung des Patienten in die mögliche Therapieplanung von großer Bedeutung. Bei asymptomatischen Patienten kann alternativ auch, trotz sehr niedriger Thrombozytenzahlen, eine "Watch & Wait" - Strategie angewendet werden, jedoch erfordert dies eine engmaschige Betreuung durch einen erfahrenen Arzt (Matzdorff et al. 2018).

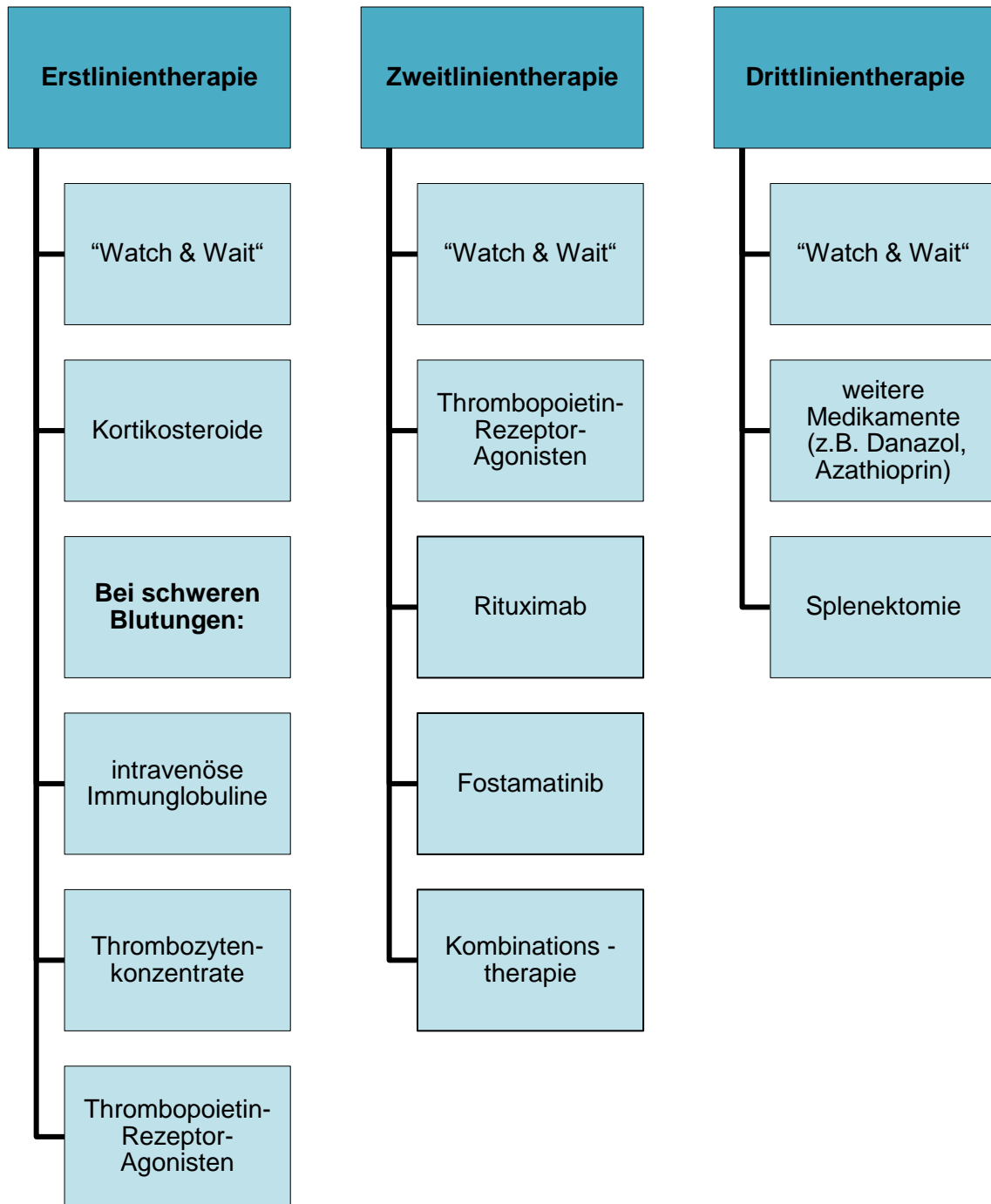


Abbildung 4: Therapiekonzept der ITP (nach Matzdorff 2018 und Provan 2019)

Bei einer neu diagnostizierten Immunthrombozytopenie sind immunsuppressive Kortikosteroide, wie z.B. Prednison oder Dexamethason in der Regel therapeutisch die erste Wahl und bieten mehrere vorteilhafte Wirkungen. Sie verringern die Blutplättchen-Clearance der Thrombozyten durch Makrophagen (Handin et al. 1978), erhöhen die Blutplättchenproduktion (Gernsheimer et al. 1989) und haben einen gefäßabdichtenden Effekt, wodurch Blutungen verringert werden (Kitchens et al. 1986). Durch die Gabe der Kortikosteroide ist in der Regel ein Anstieg der Thrombozytenzahl zu beobachten, jedoch sollte diese Therapieform nicht zu lange aufrechterhalten werden. Grund dafür ist, dass deren Gabe nach etwa 30 – 45 Tagen keine zusätzlich begünstigenden Ergebnisse bewirkt und die Nebenwirkungen von Kortikosteroiden allmählich überwiegen (Pizzuto et al. 1984). Diese Nebenwirkungen manifestieren sich beispielsweise in Form von Bluthochdruck, dem Cushing-Syndrom, Gewichtszunahme, Infektionsanfälligkeit, Muskelschwund, Osteoporose oder Stimmungsschwankungen (Matzdorff et al. 2018; Provan et al. 2019). Treten innerhalb der Erstlinientherapie schwere Blutungen auf oder muss die Thrombozytenzahl vor nicht verschiebbaren Operationen schnellstmöglich angehoben werden, ist die Gabe von intravenösen Immunglobulinen (IVIg) indiziert (Kovaleva et al. 2016; Provan et al. 2019). Diese inhibieren ebenfalls die Phagozytose der Thrombozyten, wodurch ein rascher, jedoch sehr kurzfristiger (ca. 2 – 4 Wochen) Anstieg der Thrombozytenzahl zu erwarten ist. Sollte eine relevante Kontraindikation für eine primäre Kortikosteroidtherapie gegeben sein (z.B. Schwangerschaft, aktive Infektionen, uneingestellter Diabetes), sind IVIGs als Initialtherapie ebenfalls indiziert (Matzdorff et al. 2018; Provan et al. 2019). Bei sehr schweren Blutungen kann zusätzlich die Gabe von Thrombozytenkonzentraten oder die frühzeitige Gabe von Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten (TRA) in Betracht gezogen werden (Salles et al. 2017; Matzdorff et al. 2018).

In der Regel sprechen die Patienten gut auf eine initiale Therapie mittels Kortikosteroiden an. Allerdings lässt sich häufig ein erneutes Abfallen der Thrombozytenwerte bei allmählichem Ausschleichen der Medikamente beobachten. Ist das Therapieergebnis durch Kortikosteroide deshalb lediglich partiell bzw. ungenügend, gehen aktuelle Therapiekonzepte in eine Zweitlinientherapie über, bei welcher der Nutzen und die Nebenwirkungen einer weiteren Therapie genauestens abgewogen werden müssen. Neben der passiven "Watch & Wait" - Strategie werden Patienten innerhalb dieser Therapiestufe in der Regel mit Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten, wie zum Beispiel Romiplostim, Eltrombopag oder Avatrombopag, behandelt (Matzdorff et al. 2018). Diese sind in der Lage, an Thrombopoietin-Rezeptoren zu binden, wodurch die Thrombopoese angeregt wird (Jurczak et al. 2018). Dabei ist bei etwa 90 % der Patienten ein kurzfristiger Thrombozytenanstieg zu beobachten (Matzdorff et al. 2018). Langfristig kommt es, je

nach Studiendauer bzw. Studienaufbau, bei 50 – 90 % der Patienten zu einem Ansprechen der Therapie. Langzeitstudien zufolge, haben TRAs eine gute Verträglichkeit und zeigen nur selten schwere Nebenwirkungen, wie z.B. Knochenmarksfibrosen oder Thrombosen (Ghanima et al. 2019). Nach einer mehrmonatigen TRA-Therapie ist bei bis zu 30 % der Patienten eine Remission der Immunthrombozytopenie zu erwarten, nachdem die Medikation ausgeschlichen wurde. Die meisten Patienten (ca. 70 %) sind allerdings auf die dauerhafte Einnahme von TRAs angewiesen (Lucchini et al. 2021). Eine weitere Behandlungsoption der Zweitlinientherapie stellt die Gabe von Rituximab dar (Provan et al. 2019). Dieser, zu der Gruppe der monoklonalen Antikörper gehörende Arzneistoff hat sich innerhalb der Therapie von Autoimmunkrankheiten etabliert. Er richtet sich gegen das auf der Membranoberfläche von B-Zellen exprimierte Antigen CD 20. Die Bindung und Interaktion führt zu antigenabhängiger Zytotoxizität, Phagozytose oder komplementinduzierter Zelllyse (Cooper et al. 2010). Ein Ansprechen auf die Therapie ist in der Regel schon nach wenigen Wochen zu beobachten, allerdings ist zu sagen, dass eine Langzeitwirksamkeit durch Rituximab nur gelegentlich gegeben ist. So konnte eine Fünf-Jahres-Ergebnisanalyse zeigen, dass lediglich 21 % der adulten und 26 % der kindlichen Patienten in der Lage waren, behandlungsfrei zu bleiben (Patel et al. 2012). Grund dafür ist eine zu beobachtende Rituximab-Resistenz, welche eine unvollständige Depletion der B-Zellen und damit eine Rekonstitution zur Folge hat (Kado et al. 2016). Eine in den USA erst seit 2018 genehmigte Therapieoption zeigt außerdem die Einnahme des Milz-Thyrosinkinase (Syk)-Inhibitors Fostamatinib zur Behandlung einer chronischen ITP auf. Seit 2019 spricht sich auch die Europäische Arzneimittelagentur für die Zulassungsempfehlung von Fostamatinib aus. Eine Aktivierung der Syk, welche durch Ligandenbindung an Fcy-Rezeptoren erfolgt, führt in Makrophagen zu einer Neuordnung des Zytoskeletts. Sie stellt damit eine ganz wesentliche Funktion innerhalb der Phagozytose von, mit Antikörpern belegten, Blutplättchen dar. Fostamatinib inhibiert in seiner aktiven Form, dem Taminib, die Signaltransduktion, wodurch eine reduzierte Makrophagen-Phagozytose von Thrombozyten resultiert. Kuwana et al. konnten innerhalb einer placebokontrollierten, doppelblinden Parallelgruppenstudie zeigen, dass 36 % der Patienten, welche Fostamatinib einnahmen, eine stabile Thrombozytenzahl von  $> 50.000 / \mu\text{l}$  über einen Zeitraum von 24 Wochen erreichten. Außerdem war der Bedarf einer Notfallmedikation und das Auftreten von Blutungssymptomen im Vergleich zu der Placebogruppe geringer (Kuwana et al. 2023). Eine Therapie mittels Fostamatinib ist in der Regel mit dem Auftreten von Nebenwirkungen verbunden, so zeigten Connell et al., dass dabei vor allem eine Diarrhö (31 %), Hypertonie (28 %), Übelkeit (19 %) und Neutropenie (1 %) zu

nennen sind (Connell et al. 2019). Ein weiterer Therapieansatz, welcher bei rezidivierter ITP erfolgsversprechend scheint, ist die medikamentöse Kombinationstherapie. Es konnte gezeigt werden, dass durch die Einnahme von Fostamatinib und Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten über einen Zeitraum von vier Monaten eine mediane Thrombozytenzahl von 120.000 /  $\mu$ l erreicht werden kann. Dieser noch sehr neue Therapieansatz bedarf zukünftig weitere klinische Studien, um dessen Durchführbarkeit, Indikationen und die entsprechenden Behandlungsergebnisse zu prüfen (Passucci et al. 2024).

Führt die Behandlung der ITP durch genannte Therapieoptionen zu keinem zufriedenstellenden Ergebnis mit ausreichend hohen Thrombozytenzahlen oder ist mit unannehmbaren Nebenwirkungen verbunden, so kann eine Splenektomie als weitere Therapiemaßnahme in Erwägung gezogen werden. Diese sollte frühestens zwölf Monate nach Diagnose erfolgen, da die Möglichkeit einer spontanen Remission besteht (Provan et al. 2019). Bei etwa 81 % der Patienten führt die Entfernung des Hauptorgans der Thrombozytenelimination zu einer positiven Ansprache (Pizzuto et al. 1984). Nach 20 Jahren liegt die Rate der rezidivfreien Patienten bei ca. 67 % (Vianelli et al. 2013). Trotz der guten Aussichten einer Remission durch die Splenektomie, birgt auch diese Therapieform Risiken. So besteht bei dieser Patientengruppe ein erhöhtes Risiko an Thromboembolien und Infektionen zu erkranken (Boyle et al. 2013). Entscheidet sich der Patient deshalb bewusst gegen eine Splenektomie, gibt es innerhalb der Drittlinientherapie weitere Medikamente, die zur Behandlung der ITP eingesetzt werden können. Diese besitzen jedoch häufig keine arzneimittelrechtliche Zulassung zur Therapie der ITP (z.B. Danazol) bzw. lediglich Altzulassungen (z.B. Azathioprin, Cyclophosphamid oder Vinca), weswegen ihre Wirkung teilweise nicht durch moderne Studiendaten belegt ist. Außerdem sind sie nicht selten mit schwereren Nebenwirkungen verbunden (Matzdorff et al. 2018).

Auf Grund moderner Studiendaten und aktualisierten Therapiekonzepten ist die Prognose der Immunthrombozytopenie sehr gut. Selbst bei Patienten mit einer schweren Form der adulten ITP kommt es noch nach fünf Jahren bei etwa 86 % zumindest zu einer partiellen Remission, sodass eine Splenektomie durchaus um mehrere Jahre verzögert werden kann (Sailer et al. 2006). Durch neue Medikamente, wobei besonders die Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten zu nennen sind, konnte die Mortalität auf 0 – 7 % gesenkt werden (Matzdorff et al 2018). Dabei ist zu betonen, dass Patienten mit einer chronischen ITP ein besonders hohes Risiko für Infektionen und hämorrhagische Episoden im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung haben. So ist das Risiko für blutungsbedingte Todesfälle innerhalb dieser Patientengruppe um das 12-fache erhöht (Nørgaard et al. 2011).

## 1.2 Nachweis von Thrombozytenantikörpern durch den direkten MAIPA

Autoantikörper spielen im Rahmen der Immunthrombozytopenie eine wesentliche Rolle. So führen sie, durch die Zerstörung der Thrombozyten, zu den charakteristischen klinischen Erscheinungen dieser Erkrankung. Innerhalb des Nachweises von Thrombozytenantikörpern konnten in den vergangenen Jahrzehnten erhebliche Fortschritte erzielt werden. 1959 wurde mittels eines Thrombozytenaggregationstests der erste thrombozytenspezifische Antikörper, HPA-1a, nachgewiesen (van Loghem et al. 1959). In den 1970er Jahren entstanden durch die Entwicklung von immunfluoreszenzmarkierten Anti-Human-Immunglobuline neuere Antikörper-Tests, wie beispielsweise der Plättchen-Suspensions-Immunfluoreszenztest (PSIFT) oder der Thrombozyten-Immunfluoreszenztest (PIFT). Ein Nachteil dieser Verfahren liegt allerdings darin, dass eine Unterscheidung von HLA-Antikörpern und plättchenspezifischen Antikörpern nicht möglich ist, wodurch eine geringe Spezifität resultiert. Dieses Problem wurde in den folgenden Jahren durch die Beschreibung der Solubilisierung der Thrombozytenmembran unter gleichzeitiger Beibehaltung ihrer Antigenität und der Verfügbarkeit GP-spezifischer monoklonaler Antikörper gelöst. Dadurch wurde es möglich, thrombozytärer Antikörper mittels moderner Glykoprotein-spezifischer Tests nachzuweisen (Porcelijn et al. 2020). 1987 entwickelten Kiefel et al. den MAIPA-Assay, mit welchem dies realisiert wurde. Je nach Studienlage zeigt der direkte MAIPA eine Spezifität von 80 – 100 % (Kiefel et al. 1996; Brighton et al. 1996) und eine Sensitivität von 29 – 55 % (Joutsu et al. 1997; McMillan et al. 2003). Folglich hat ein positiver Antikörpernachweis einen großen Aussagewert, welcher die Diagnose der ITP stützt, wohingegen ein negativer Antikörpernachweis eine ITP nicht ausschließen kann.

Für die Analyse einer Blutprobe durch den direkten MAIPA wird antikoaguliertes Blut, aus dem die Thrombozyten isoliert werden, benötigt. Dieses wird zunächst bei geringer g-Zahl (ca. 120 g) zentrifugiert, wodurch das plättchenreiche Plasma von den Erythrozyten getrennt wird. Erneutes Zentrifugieren des abgehobenen plättchenreichen Plasmas isoliert die Thrombozyten. Die so gewonnenen Patiententhrombozyten werden mit monoklonalen Antikörpern inkubiert, welche sich gegen bestimmte Glykoproteine richten (z.B. GP IIb/IIIa, GP Ib/IX oder GP V). Nichtgebundene Bestandteile werden nach der Inkubationsphase herausgewaschen. Mittels eines Detergenz kommt es zum Auflösen der Thrombozytenmembran, wobei die Glykoproteinkomplexe erhalten bleiben. Anschließend erfolgt die Fixierung der Glykoproteinkomplexe, die einen monoklonalen Antikörper gebunden haben. Dies erfolgt durch eine mit polyspezifischen Anti-Maus-Immunglobulin-Antikörpern gebundenen Mikrotiterplatte, in welche das Lysat pipettiert wird. Falls der Patient Antikörper gegen seine Glykoproteine trägt, können diese nun im

trimolekularen Komplex (Antikörper – Glykoprotein – immobilisierter Antikörper) mittels eines Anti-Human-Antikörpers nachgewiesen werden. Dieser ist enzymmarkiert, so dass die nach Substratumsatz auftretende Farbreaktion in einem Photometer gemessen werden kann (Kiefel et al. 1987; Kiefel 1992).

Innerhalb der Thrombozytenimmunologie hat sich dieses Testverfahren zum Nachweis von Thrombozyten-Allo -und Autoantigenen auf Thrombozyten-Glykoproteinen etabliert und sich in der Diagnostik der ITP als Referenzmethode manifestiert (Kiefel et al. 1987; Kiefel 1992). Grund dafür ist vor allem die herausragende Spezifität des Testverfahrens. Der Assay ermöglicht den zuverlässigen Nachweis von Antikörpern, nach Identifizierung der wichtigsten Thrombozyten-Allo -und Autoantigene auf den Thrombozyten-Glykoproteinen. Somit unterstützt er die Diagnosesicherung der ITP maßgeblich und optimiert die damit verbundenen Therapiemaßnahmen. Aktuelle Leitlinien empfehlen deshalb den Nachweis von Thrombozyten-Autoantikörpern. Allerdings soll sich dieser auf Patienten mit einer chronischen ITP oder einem atypischen Krankheitsverlauf beschränken (Matzdorff et al. 2018).

### 1.3 Bezug der Immunthrombozytopenie zur Zahnmedizin

Lee et al. beschreiben einen lebensbedrohlichen Patientenfall aus dem Jahre 2018 nach erfolgter dentaler Implantatoperation. Bei diesem ITP-Patienten traten erhebliche, postoperative Blutungen auf, mit Beeinträchtigung der Atemwege durch Schwellung (Lee et al. 2018). Dieser Fall zeigt, dass es innerhalb der zahnärztlichen Anamnese unerlässlich ist, Patienten mit einer Immunthrombozytopenie bzw. einem möglichen, noch nicht diagnostizierten Thrombozytenmangel, zu erkennen. Durch ein Übersehen der Erkrankung kann es ansonsten zu übermäßig starken Blutungen während der zahnärztlichen Behandlung, zu schweren Nachblutungen oder auch zu Infektionen kommen. Auch deswegen ist die genaue Beurteilung der Mundschleimhaut und mögliche abnorme Veränderungen ein wichtiger Teil der zahnärztlichen Untersuchung. Klinisch lassen sich bei ITP-Patienten in der Regel Petechien, Ekchymosen und Hämatome diagnostizieren, die besonders häufig im Bereich des Planum buccale, des Palatum molle / durum, der Zunge und der Lippen auftreten (Mann et al. 2011). Außerdem können, verursacht durch chronische Blutungen innerhalb der Mundhöhle, gehäuft bräunliche Verfärbungen auf den Zähnen gefunden werden. Ursache dafür sind Ablagerungen von Blutabbauprodukten (z.B. Hämosiderin) (Bansal et al. 2017). Patienten berichten auch, dass es während der Zahnpflege mit der Zahnbürste und Zahnseide häufig zu Blutungen kommt. Eine ganz wesentliche Aufgabe des Zahnarztes ist es, gerade diese Patientengruppe – trotz der verstärkt auftretenden Blutungen – für eine ordnungsgemäße Mundhygiene und einen regelmäßigen Zahnarztbesuch zu motivieren. So kann die Entstehung bzw. das Fortschreiten von Zahnerkrankungen (z.B. Parodontitis) so früh wie möglich verhindert werden, um die Notwendigkeit einer aggressiveren Therapie (z.B. Zahnextraktionen) in einem späteren Stadium zu vermeiden (Sangwan et al. 2013). Da die genannten oralen Manifestationen nicht selten die ersten Anzeichen einer ITP sein können, sollte innerhalb der Kinderzahnheilkunde ein besonderes Augenmerk auf diese Erkrankung gerichtet werden. So kann frühzeitig eine genaue Diagnostik und Therapieplanung innerhalb der pädiatrischen ITP durch einen Hämatologen erfolgen (Bansal et al. 2017; Vasconcelos et al. 2018).

Um das Blutungsrisiko bei einer zahnärztlichen Behandlung zu minimieren, ist es entscheidend, präoperativ entsprechende Thrombozytenwerte zu erreichen. Dies kann beispielsweise durch Kortikosteroide oder Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten erfolgen und sollte stets in enger Zusammenarbeit mit dem behandelnden Hämatologen entschieden werden (Matzdorff et al. 2018). Tarantino et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass bei der zahnärztlichen Behandlung von chronischen ITP-Patienten keine Blutungskomplikationen auftraten. Voraussetzung war dabei die präoperativ erfolgreiche Anhebung der Thrombozytenwerte mit Eltrombopag (Tarantino et al. 2015).

Aktuelle Leitlinien empfehlen bei entsprechenden zahnärztlichen Behandlungsmaßnahmen folgende Thrombozytenwerte (siehe Abbildung 5):

| Behandlungsmaßnahmen    | Thrombozytenwert                |
|-------------------------|---------------------------------|
| Zahnreinigung           | > 20 - 30 x 10 <sup>9</sup> / L |
| Leitungsanästhesie      | > 30 x 10 <sup>9</sup> / L      |
| einfache Zahnextraktion | > 30 x 10 <sup>9</sup> / L      |
| komplexe Zahnextraktion | > 50 x 10 <sup>9</sup> / L      |

**Abbildung 5:** Anzustrebende Thrombozytenwerte bei zahnärztlichen Behandlungsmaßnahmen (nach Matzdorff 2018)

Um Nachblutungen zu vermeiden, empfiehlt es sich, innerhalb dieser Patientengruppe besondere blutstillende Maßnahmen zu treffen. So lässt sich eine Blutung sehr effektiv durch das Aufbeißen auf einen in Tranexamsäure getränkten Tupfer stillen. Dies fördert die Bildung eines Koagels, indem die Fibrinolyse gehemmt wird. Nach Zahnextraktionen eignet sich das Einlegen eines Tabotampfleeces als Hämostyptikum, wodurch die Aggregation von Thrombozyten gefördert wird. Eine ebenfalls sehr effektive Methode zur Blutstillung ist es, Wundränder durch ein Nahtmaterial oder eine Tiefziehschiene zu komprimieren (Rostetter et al. 2018).

ITP-Patienten sind häufig, aufgrund ihrer Therapie durch Kortikosteroide, immunsupprimiert. So nimmt beispielsweise das Infektionsrisiko mit jeder 5-mg-Erhöhung der Prednisolon-Tagesdosis um etwa 13 % zu (Schumacher 2019). Die Mundflora, die durch hunderte verschiedene Bakterien -und Pilzarten gebildet wird, kann bei schlechter Mundhygiene oder einer verpassten zahnärztlichen Behandlung zu einem Infektionsrisiko für ITP-Patienten werden. Auch deshalb kann darüber nachgedacht

werden, diese Patientengruppe vor einem zahnärztlichen Eingriff durch eine Antibiotikaprophylaxe abzuschirmen. Allerdings gibt es noch keine ausreichende Studienlage, um das genaue Risiko von Zahninfektionen und die Notwendigkeit einer Antibiotikaprophylaxe bei ITP-Patienten, angemessen zu bewerten (van Dijk et al. 2021).

## 2 Zielsetzung der Studie

Der direkte MAIPA hat, aufgrund seiner ausgezeichneten diagnostischen Leistung das Potenzial, eine rasche und sichere Diagnose der ITP zu ermöglichen. Daher kann es sinnvoll sein, jeden Patienten, bei dem der Verdacht auf eine Immunthrombozytopenie besteht, einem direkten MAIPA zu unterziehen. Jedoch ist es für diese Untersuchung eine ganz wesentliche Voraussetzung, genügend Thrombozyten aus der Blutprobe zu isolieren, da eine Mindestanzahl von  $60 \times 10^6$  an Thrombozyten für den Test benötigt wird. Um die erfolgreiche Durchführung des Assays mit hoher Wahrscheinlichkeit vorhersagen zu können, müssen relevante Parameter bekannt sein und deren Einfluss auf die Durchführung des Tests geklärt werden.

Daher sollen in dieser Studie der Einfluss folgender Parameter auf die Durchführbarkeit des direkten MAIPA untersucht werden:

1. Alter der Blutprobe
2. Volumen der Blutprobe
3. Geschlecht des Patienten
4. Alter des Patienten
5. Hämatokritwert in der Blutprobe
6. Thrombozytenzahl in der Blutprobe

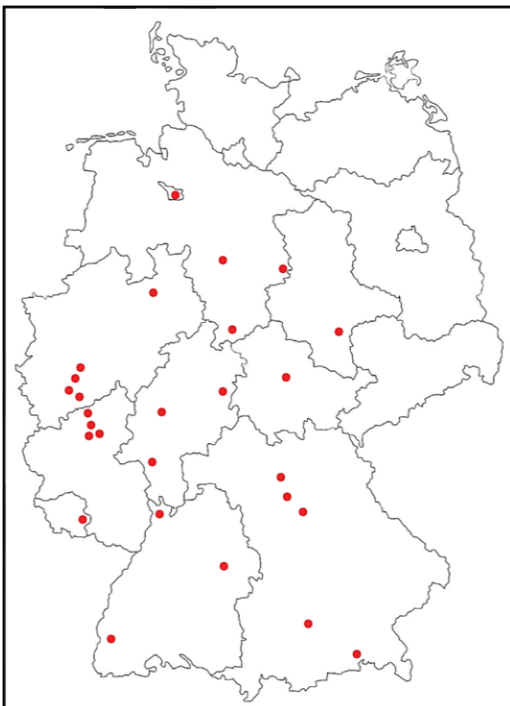
## 3 Material und Methodik

### 3.1 Datensammlung

Deutschlandweit senden Arztpraxen, Kliniken oder auch medizinische Versorgungszentren Blutproben in die Transfusionsmedizin der Universitätsklinik Gießen (siehe Abbildung 6). Innerhalb dieser Arbeit erfolgte eine Datenauswertung von Patienten mit der Verdachtsdiagnose einer ITP, deren Blutproben in dem genannten Institut im Kalenderjahr 2020, 2021 oder 2022 analysiert wurden.

Folgende Daten wurden erhoben:

- Belegnummer
- Entnahmetag der Blutprobe
- Verarbeitungstag der Blutprobe
- Hämatokritwert in der Blutprobe
- Thrombozytenzahl in der Blutprobe
- Volumen der Blutprobe
- Alter des Patienten
- Geschlecht des Patienten
- Anzahl der durchgeführten Testansätze (0 Ta, 1 Ta, 2 Ta, 3 Ta)



**Abbildung 6:** Verteilung der Arztpraxen, Kliniken und medizinischen Versorgungszentren, der sich qualifizierenden Patienten

Alle Daten wurden aus den entsprechenden Patientenakten des institutsinternen Archivs entnommen und erfasst. Zur Sicherung der Datenqualität wurde der Datensatz in einer Access-Datenbank (Microsoft 2016) erstellt, welche eine Eingabemaske enthielt und die Datenerhebung für die jeweiligen Parameter beschränkte.

### 3.2 Ethikvotum

Um sicherzustellen, dass die hier erfolgte Forschungsarbeit den ethischen Grundsätzen und Werten entspricht, fand eine Begutachtung des Vorhabens durch die Ethik-Kommission der Justus-Liebig-Universität Gießen statt. Das Projekt (AZ 102/22) erhielt dabei eine positive Zustimmung.

### 3.3 Anzahl der Testansätze

Innerhalb dieser Studie erfolgte eine Analyse der Blutproben durch den direkten MAIPA. Jede der Blutproben durchlief dabei drei Testansätze (Ta), wobei zunächst ein Testansatz gegenüber GP IIb/IIIa erfolgte. Innerhalb des zweiten Testansatzes fand eine Inkubation mittels monoklonaler Antikörper gegen GP Ib/IX statt, wohingegen sich der letzte Durchlauf gegen GP V richtete. Für jeden dieser Testansätze sind jeweils  $20 \times 10^6$ , aus der Blutprobe isolierte Thrombozyten, erforderlich, wodurch eine Mindestanzahl von  $60 \times 10^6$  Thrombozyten für die Untersuchung der Blutprobe mittels des direkten MAIPA benötigt wird. Die Anzahl der erfolgreich durchlaufenen Testansätze teilt das Patientenkollektiv dieser Studie im Folgenden in die Gruppen "0 Testansätze" (0 Ta), "1 Testansatz" (1 Ta), "2 Testansätze" (2 Ta) und "3 Testansätze" (3 Ta) ein.

### 3.4 Einschlusskriterien

Um in den Access-Datensatz aufgenommen zu werden, mussten die Patienten bzw. die Patientenakten folgende Kriterien erfüllen:

- Der Hämatokritwert liegt zwischen 30 – 70 %
- Die Thrombozytenzahl liegt zwischen 0 – 100.000 /  $\mu\text{L}$
- Das Alter der Patienten liegt zwischen 18 – 99 Jahren
- Die Anzahl der Testansätze liegt zwischen 0 – 3
- Die in Kapitel 3.1 aufgeführten Daten mussten der jeweiligen Akte vollständig entnommen werden können. Dabei sind zwei Ausnahmen zu nennen:

1) Sofern das Volumen der Blutprobe nicht angegeben war, wurde davon ausgegangen, dass das eingesendete Volumen 20 ml betrug.

2) Blutproben, die aus dem Uniklinikum Gießen selbst stammten und bei denen kein Entnahmedatum dokumentiert wurde, erhielten für den Entnahme -und Verarbeitungstag ein identisches Datum. Da der Transportweg der Blutprobe kurz ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Entnahme und der Verarbeitungsbeginn der Blutprobe am selben Tag stattfanden.

### 3.5 Statistische Methoden

Die statistischen Methoden wurden mit IBM SPSS Statistics Version 29 durchgeführt. Der gesammelte Datensatz wurde mittels einer deskriptiven Statistik ausgewertet. Die Zusammenhänge zwischen den Parametern "Zeitintervall", "Blutvolumen", "Patientenalter", "Hämatokritwert" und "Thrombozytenzahl" wurden einzeln mittels linearer Regression mit der abhängigen Variablen "Anzahl Testansätze" überprüft. Zusätzlich erfolgte innerhalb getrennter Regressionsmodelle eine Analyse, inwieweit sich die Zusammenhänge zwischen Männern und Frauen unterscheiden. In einem weiteren Schritt wurden die Parameter, die in der univariaten Regressionsanalyse einen p-Wert  $< 0,1$  ergaben, mit Hilfe einer multivariaten Regressionsanalyse erneut getestet. Dabei wurde die Rückwärts-Selektion gewählt. Schließlich fand eine Analyse der Variablen nach Dichotomisierung statt. Der Trennwert für die Dichotomisierung erfolgte dabei nach subjektivem Ermessen, ohne statistische Analysemethode. P-Werte unter 0,05 galten als signifikant. Aus den Regressionen wurden die unstandardisierten Regressionskoeffizienten mit Konfidenzintervallen und die standardisierten Regressionskoeffizienten, sowie  $R^2$  berichtet. Die standardisierten Koeffizienten wurden wie folgt interpretiert:

- $\beta \geq 0,1$ : schwacher Zusammenhang
- $\beta \geq 0,3$ : mittlerer Zusammenhang
- $\beta \geq 0,5$ : starker Zusammenhang

Graphisch wurden die Ergebnisse durch Box-Whiskers-Plot-Diagramme dargestellt. Die Boxen werden dabei durch das untere Quartil und das obere Quartil begrenzt, wobei die durchgezogene Linie innerhalb der Boxen den Median beschreibt. Durch die Whiskers werden die minimalen und maximalen Werte visualisiert, sofern sie innerhalb des anderthalbfachen Interquartilsabstand liegen. Mit einem Kreis markierte Werte befinden sich zwischen dem anderthalbfachen und dreifachen Interquartilsabstand und werden als Ausreiser bezeichnet. Extremwerte sind dagegen Werte, welche außerhalb des dreifachen Interquartilsabstands liegen.

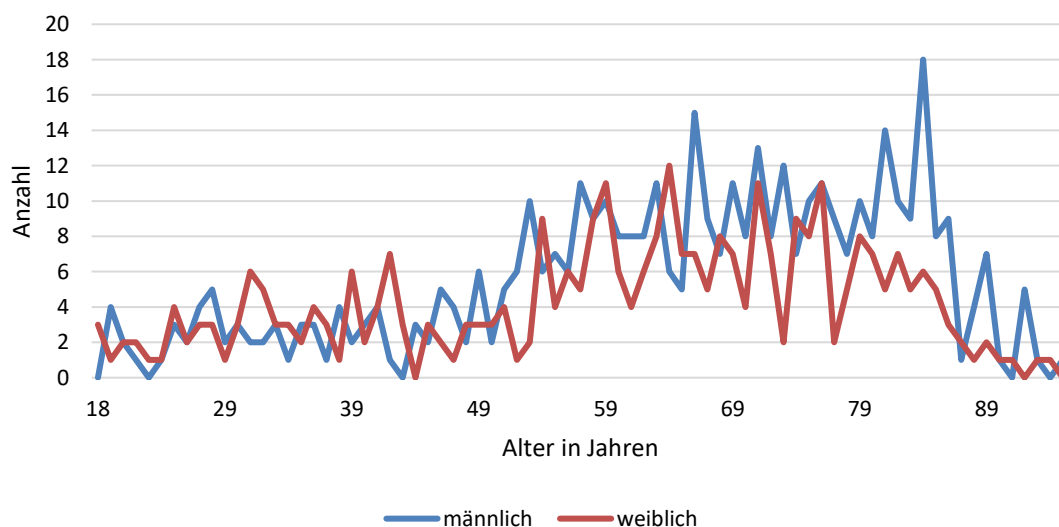
## 4 Ergebnis

### 4.1 Beschreibung der Stichprobe

Für die Kalenderjahre 2020, 2021 und 2022 konnten insgesamt 754 Patienten erfasst werden, die die genannten Einschlusskriterien erfüllten und sich somit für die Teilnahme an der Studie qualifizierten. Bei 405 (53,7%) Patienten konnte der Assay für alle drei Glykoproteine IIb/IIIa, Ib/IX und V durchgeführt werden. Bei 115 Patienten (15,3 %) konnten zwei Glykoproteine (GP IIb/IIIa und Ib/IX) untersucht werden, bei 127 (16,8 %) Patienten lediglich ein Glykoprotein (GP IIb/IIIa). In 14,2 % der eingesandten Blutproben (n = 107) konnte die Diagnostik nicht durchgeführt werden.

#### 4.1.1 Alter und Geschlecht der Patientengruppe

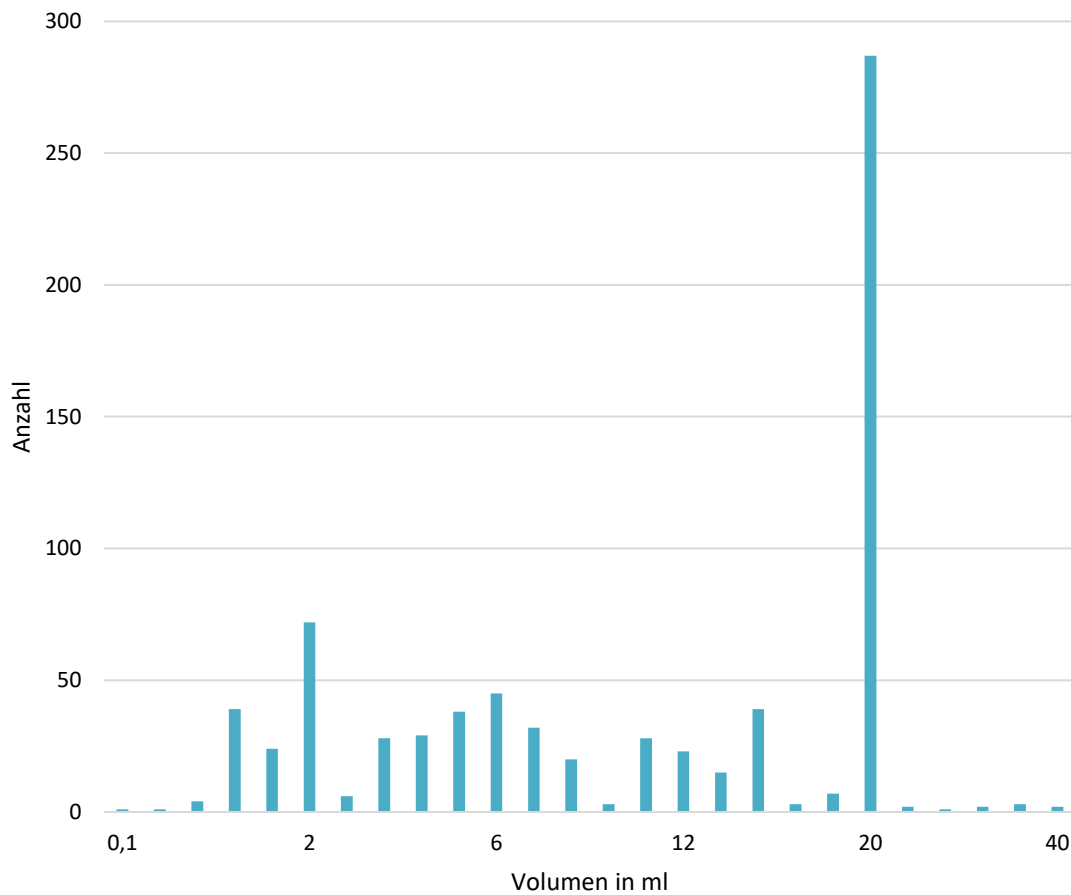
Das Alter des Patientenkollektivs bewegte sich zwischen 18 und 95 Jahren, wobei der Altersmedian bei 65 Jahren lag. 429 (56,9%) Patienten waren männlich und 325 (43,1%) weiblich. Die männlichen Patienten waren zwischen 19 und 95 Jahren alt, wobei der Median 67 Jahre betrug. Die weiblichen Patienten waren im Alter zwischen 18 und 94 Jahren, wobei der Altersmedian mit 63 Jahren etwas niedriger war als bei den Männern. Der Häufigkeitsgipfel einer möglichen ITP trat innerhalb der Patientengruppe im Altersbereich zwischen 50 und 85 Jahren auf, also im höheren Erwachsenen -und Rentenalter. Dabei endet der Häufigkeitsgipfel bei den weiblichen Patienten mit 80 Jahren etwas früher als bei den männlichen Patienten. Die männlichen Patienten stellen in diesem Altersbereich mit 18 Probanden einen deutlichen Peak innerhalb der Patientengruppe dar (siehe Abbildung 7).



**Abbildung 7:** Altersverteilung des Patientenkollektivs

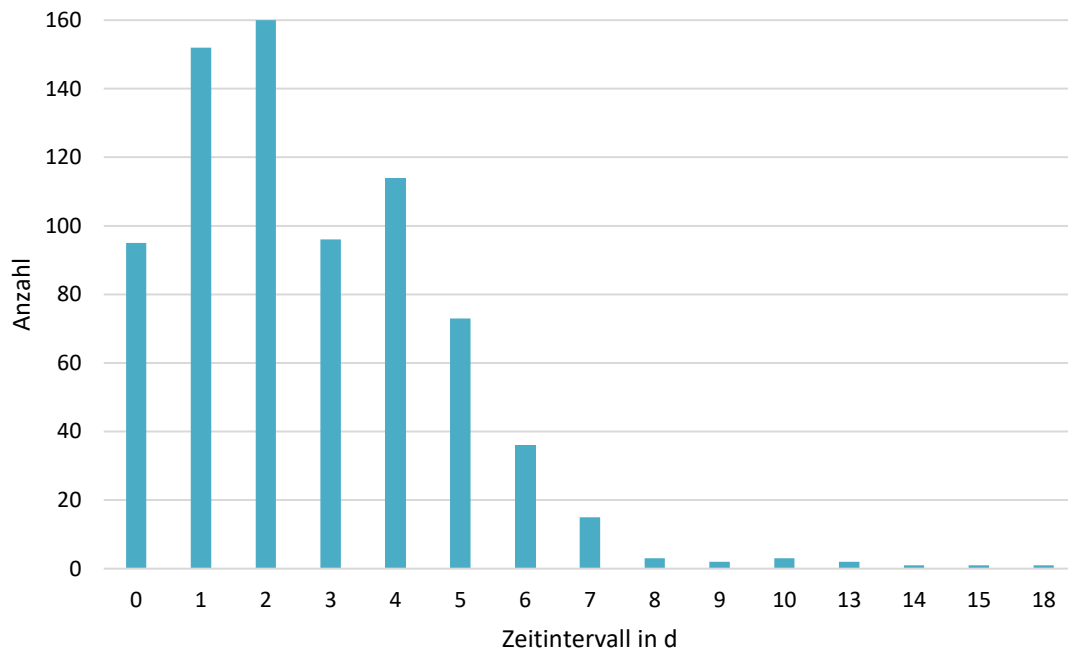
#### 4.1.2 Laborchemische Angaben

Das für das Testverfahren bereitgestellte Blutvolumen variierte innerhalb der Patientengruppe zwischen 0,1 ml und 40,0 ml, wobei der Median bei 12 ml lag. Auffällig ist, dass bei 20 ml ein deutliches Maximum mit 287 Blutproben zu erkennen ist (siehe Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Volumenverteilung der eingesendeten Blutproben

Das Zeitintervall, das die Tage zwischen der Entnahme der Blutprobe und der Verarbeitung der Blutprobe beschreibt, bewegte sich zwischen 0 und 18 Tagen. Dabei lag der Median bei 2 Tagen. Für den Großteil der untersuchten Patientengruppe erfolgte die Analyse innerhalb einer Woche (siehe Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Zeitintervall zwischen Blutabnahme und Verarbeitung der Blutproben

Der Hämatokritwert bewegte sich insgesamt zwischen 30,0 % und 58,1 %. Der Median lag dabei bei 41,6 %. Die Thrombozytenzahlen innerhalb der Patientengruppe schwankte in einem Bereich von < 1000 /  $\mu\text{L}$  und 99.000 /  $\mu\text{L}$ , mit einem Median bei 49.500 /  $\mu\text{L}$ .

## 4.2 Univariate Regressionsanalyse der Parameter

In der nachfolgenden Tabelle (siehe Tabelle 1) sind die Ergebnisse der univariaten Analysen für die Parameter "Zeitintervall", "Patientenalter", "Thrombozytenzahl", "Blutvolumen" und "Hämatokritwert" dargestellt. Diese wurden mit Hilfe von univariaten Regressionsmodellen gegen die abhängige Variable "Anzahl der Testansätze" einzeln getestet.

**Tabelle 1:** Univariate Regressionsanalyse der Parameter

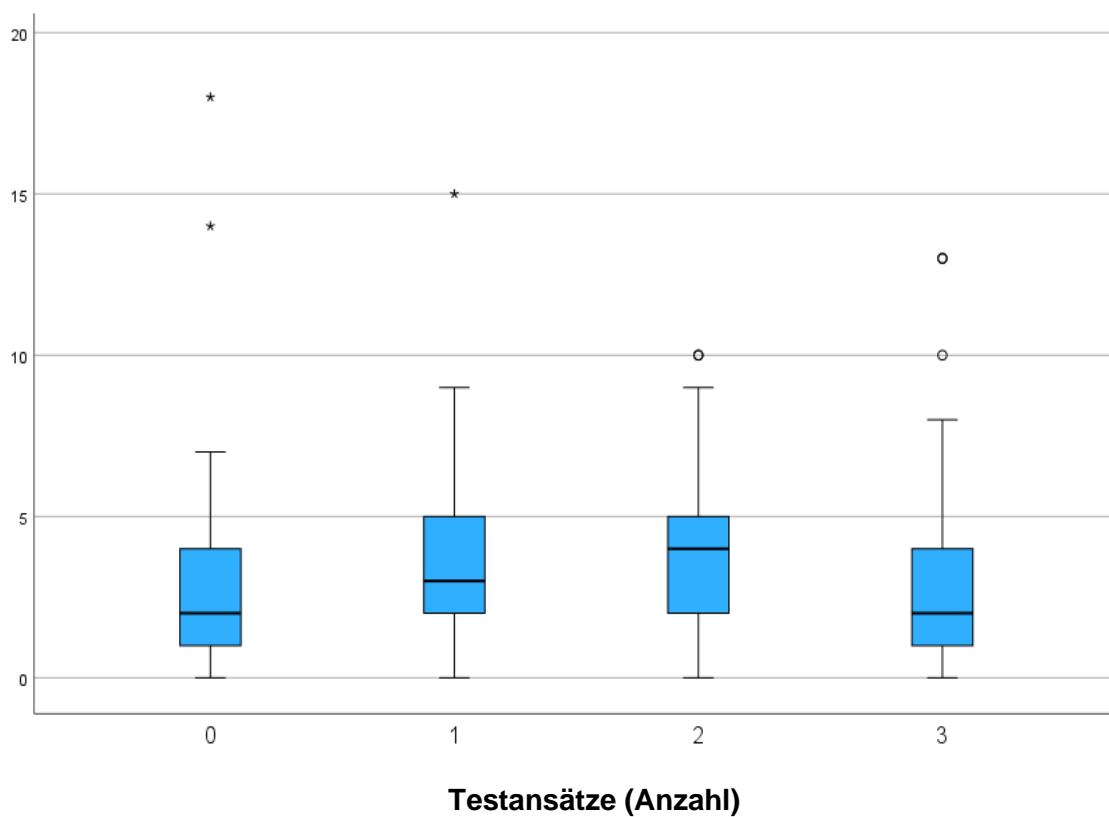
| Parameter   | b (95% KI)                     | $\beta$ | p-Wert  | R <sup>2</sup> |
|---|--------------------------------|---------|---------|----------------|
| <b>Zeitintervall (d)</b>                            | - 0,089<br>(- 0,125 – - 0,052) | - 0,17  | < 0,001 | 0,029          |
| <b>Patientenalter (yr)</b>                          | - 0,001<br>(- 0,006 – 0,003)   | - 0,018 | 0,614   | 0              |
| <b>Thrombozytenzahl<br/>(pro <math>\mu</math>l)</b> | 0,02<br>(0,017 – 0,022)        | 0,499   | < 0,001 | 0,249          |
| <b>Blutvolumen (ml)</b>                             | 0,053<br>(0,043 – 0,062)       | 0,371   | < 0,001 | 0,138          |
| <b>Hämatokritwert (%)</b>                           | 0,015<br>(0,002 – 0,028)       | 0,081   | 0,027   | 0,007          |

- b: unstandardisierter Regressionskoeffizient
- 95% KI: 95 % Konfidenzintervall zu b
- $\beta$ : standardisierter Regressionskoeffizient

### 4.2.1 Zeitintervall

Der Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall und der Anzahl der Testansätze wurde als schwach, negativ und signifikant ausgewiesen ( $b = -0,089$  (-0,125 – -0,052);  $\beta = -0,17$ ;  $p < 0,001$ ). Dabei erklärt das Modell 2,9 % der Varianz der abhängigen Variablen. Im Median betragen das Zeitintervall für 0 Ta: 2 d, 1 Ta: 3 d, 2 Ta: 4 d und 3 Ta: 2 d. Der Verlauf des Zusammenhangs verhält sich annähernd einer umgekehrten Parabel (siehe Abbildung 10).

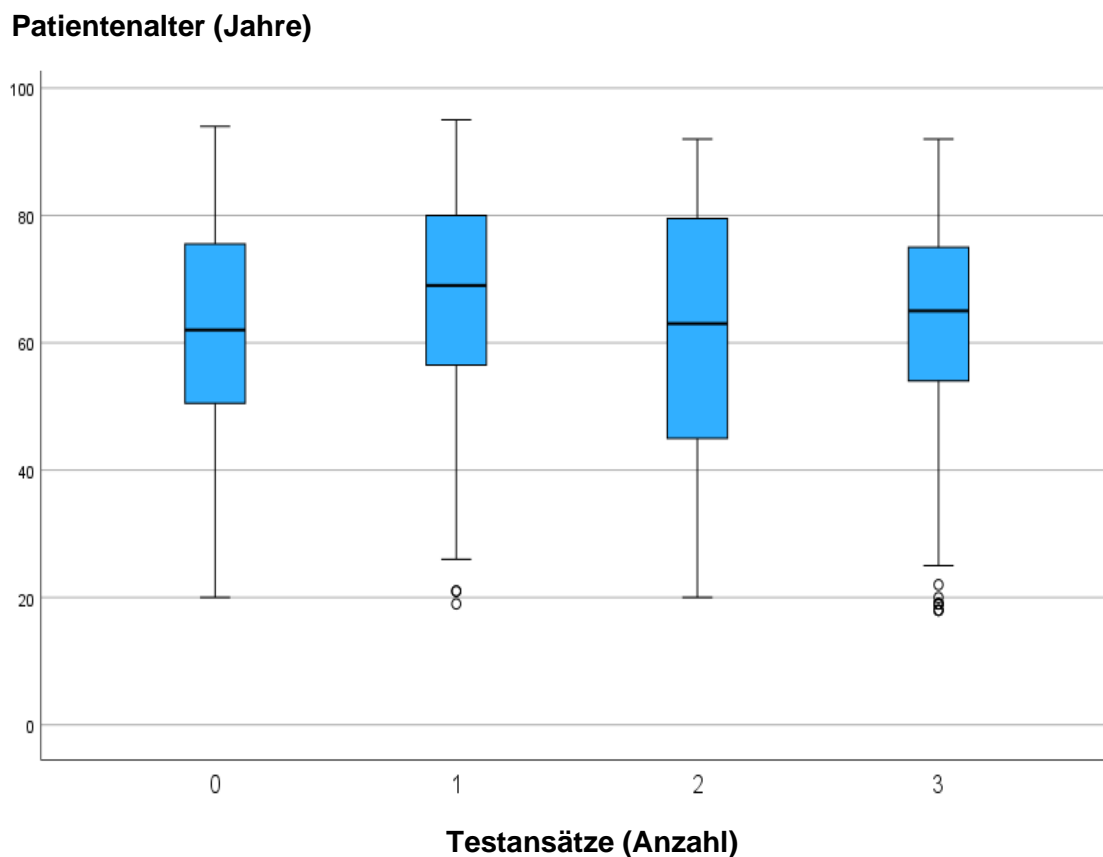
#### Zeitintervall (Tage)



**Abbildung 10:** Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall und der Anzahl der Testansätze

#### 4.2.2 Patientenalter

Als schwach, negativ und nicht signifikant konnte das Verhältnis zwischen dem Patientenalter und der Anzahl der Testansätze beschrieben werden ( $b = -0,001$  ( $-0,006 - 0,003$ );  $\beta = -0,018$ ;  $p = 0,614$ ). 0 % der Varianz der abhängigen Variablen werden dadurch erklärt. Im Median beträgt das Patientenalter für 0 Ta: 62 yr, 1 Ta: 70 yr, 2 Ta: 63 yr und 3 Ta: 65 yr (siehe Abbildung 11).

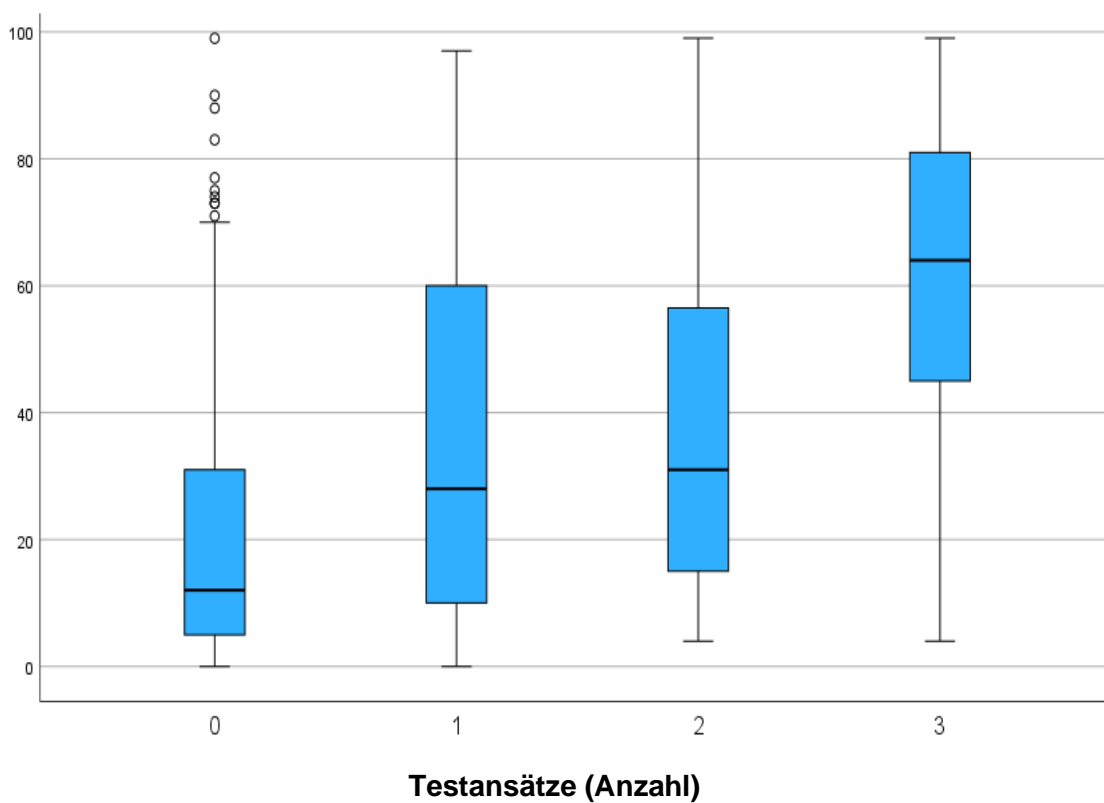


**Abbildung 11:** Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und der Anzahl der Testansätze

### 4.2.3 Thrombozytenzahl

Die Thrombozytenzahl wies innerhalb der Patientengruppe einen starken, positiven und signifikanten Zusammenhang zur Anzahl der Testansätze auf ( $b = 0,02$  (0,017 – 0,022);  $\beta = 0,499$ ;  $p < 0,001$ ). Das Modell erklärt 24,9 % der Varianz der abhängigen Variablen. Im Median beträgt die Thrombozytenzahl für 0 Ta: 12 / nl, 1 Ta: 28 / nl, 2 Ta: 31 / nl und 3 Ta: 64 / nl. Der Verlauf zeigt einen positiven Anstieg mit steigender Anzahl an Testansätzen (siehe Abbildung 12).

#### Thrombozyten (Anzahl / nl)

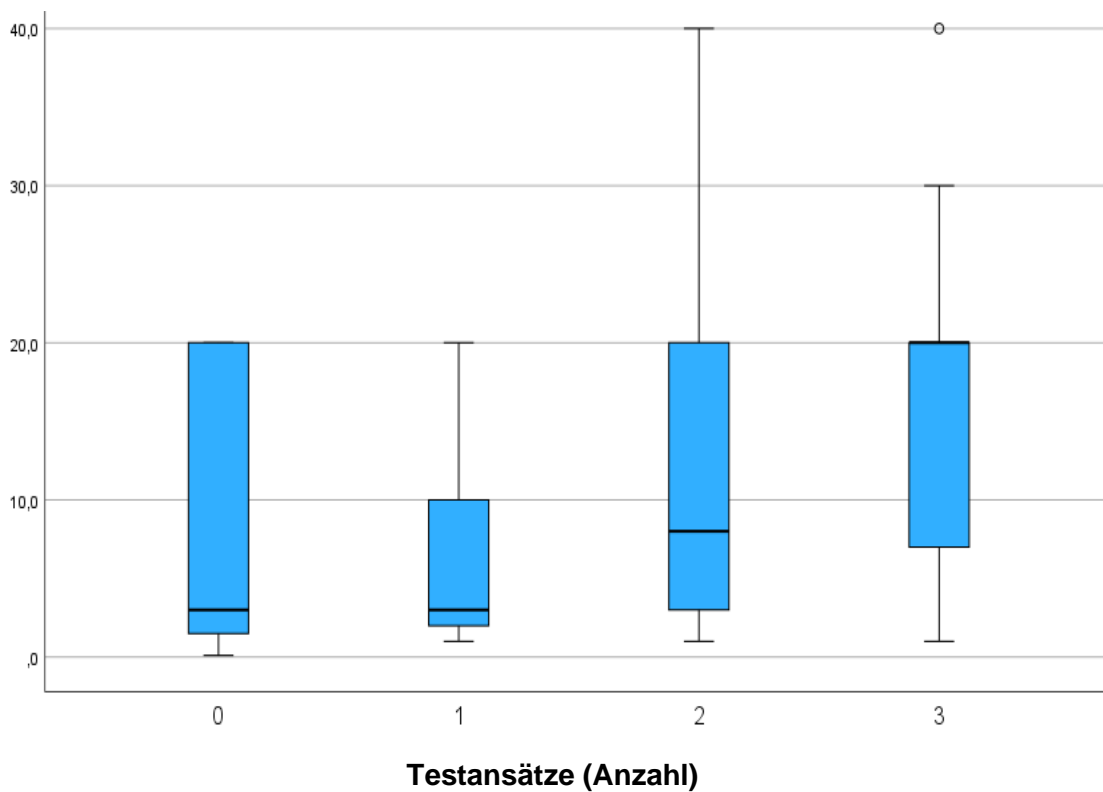


**Abbildung 12:** Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl und der Anzahl der Testansätze

#### 4.2.4 Blutvolumen

Zwischen dem Zeitintervall und der Anzahl der Testansätze wurde ein mittlerer, positiver und signifikanter Zusammenhang festgestellt ( $b = 0,053$  ( $0,043 - 0,062$ );  $\beta = 0,371$ ;  $p < 0,001$ ). Das Modell erklärt 13,8 % der Varianz der abhängigen Variablen. Im Median beträgt das Blutvolumen für 0 Ta: 3 ml, 1 Ta: 3 ml, 2 Ta: 8 ml und 3 Ta: 20 ml. In der Graphik wird deutlich, dass der Median des Volumens mit zunehmender Anzahl der Testansätze positiv ansteigt (siehe Abbildung 13).

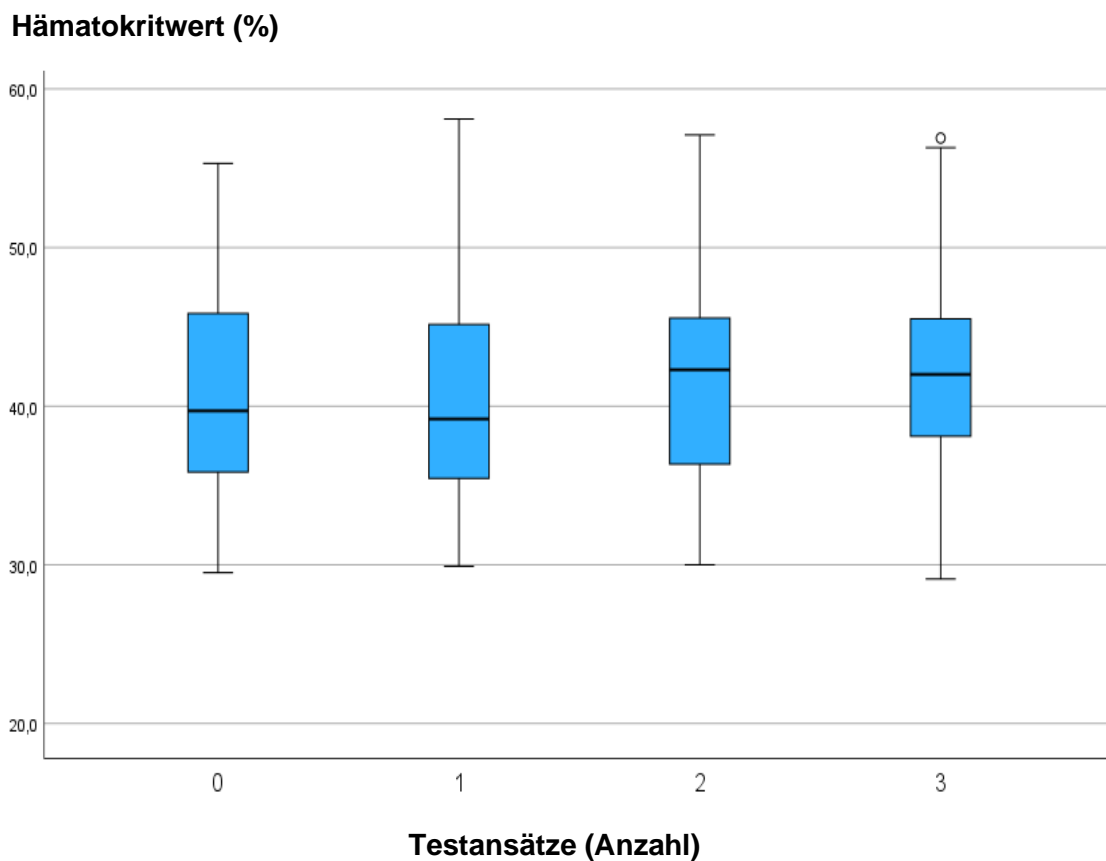
#### Blutvolumen (ml)



**Abbildung 13:** Zusammenhang zwischen dem Blutvolumen und der Anzahl der Testansätze

#### 4.2.5 Hämatokritwert

Das Verhältnis zwischen dem Hämatokritwert und der Anzahl der Testansätze wurde als schwach, positiv und signifikant beschrieben ( $b = 0,015$  (0,002 – 0,028);  $\beta = 0,081$ ;  $p = 0,027$ ). 0,7 % der Varianz der abhängigen Variablen werden dadurch erklärt. Im Median beträgt der Hämatokritwert für 0 Ta: 39,7 %, 1 Ta: 39,2 %, 2 Ta: 42,3 % und 3 Ta: 42,0 % (siehe Abbildung 14).



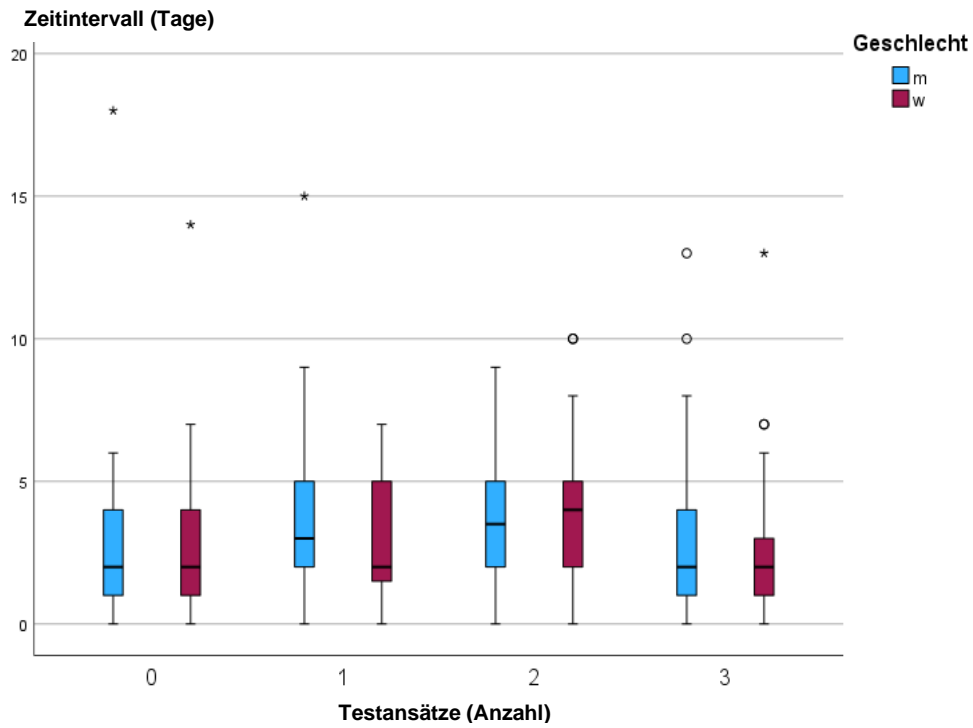
**Abbildung 14:** Zusammenhang zwischen dem Hämatokritwert und der Anzahl der Testansätze

#### 4.2.6 Geschlecht

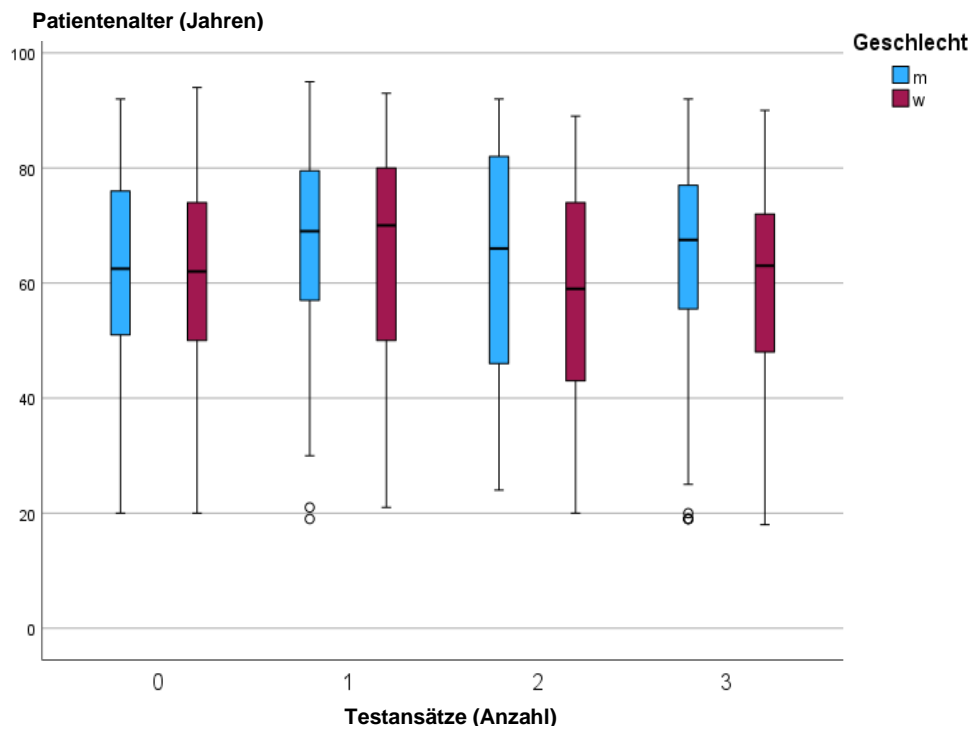
Bei der getrennten Betrachtung der einzelnen Parameter für Frauen und Männer, konnte kein erheblicher Unterschied der Zusammenhänge festgestellt werden (siehe Tabelle 2 und Abbildung 15 – 19).

**Tabelle 2:** Univariate Regressionsanalyse der Parameter unter Berücksichtigung des Geschlechts

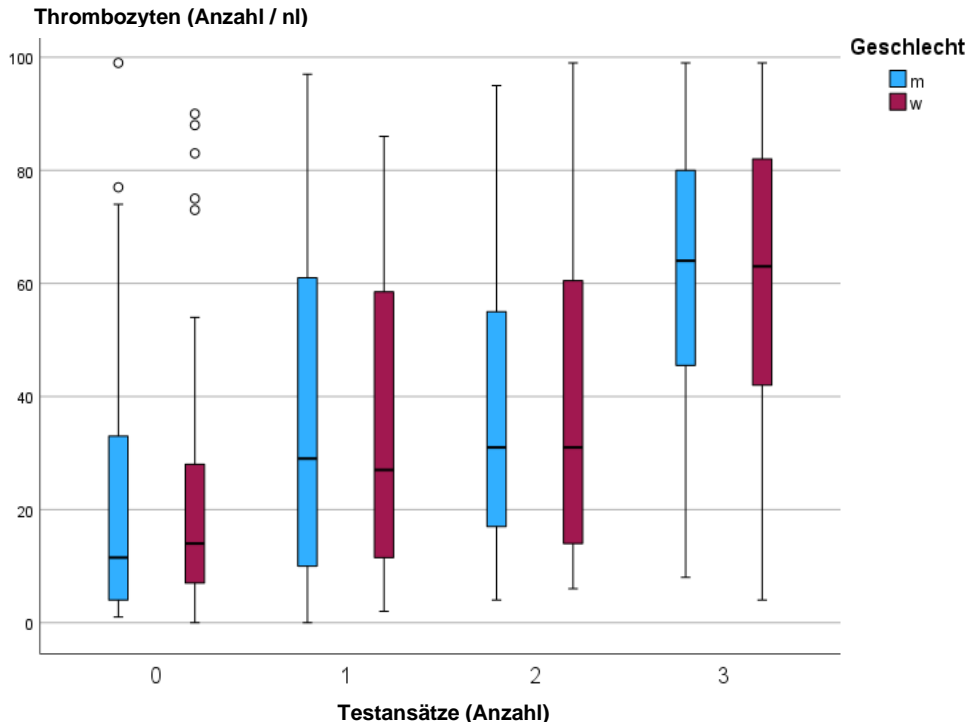
| Parameter        |   | b (95% KI)                  | $\beta$ | p-Wert  | R <sup>2</sup> |
|------------------|---|-----------------------------|---------|---------|----------------|
| Zeitintervall    | w | - 0,084 (- 0,141 – - 0,027) | - 0,16  | 0,004   | 0,025          |
|                  | m | - 0,091 (- 0,14 – - 0,043)  | - 0,177 | < 0,001 | 0,031          |
| Patientenalter   | w | - 0,003 (- 0,1 – 0,004)     | - 0,05  | 0,369   | 0,002          |
|                  | m | 0,001 (- 0,006 – 0,007)     | 0,009   | 0,849   | 0              |
| Thrombozytenzahl | w | 0,019 (0,015 – 0,022)       | 0,489   | < 0,001 | 0,239          |
|                  | m | 0,02 (0,017 – 0,023)        | 0,506   | < 0,001 | 0,256          |
| Blutvolumen      | w | 0,049 (0,035 – 0,063)       | 0,362   | < 0,001 | 0,131          |
|                  | m | 0,056 (0,043 – 0,069)       | 0,378   | < 0,001 | 0,143          |
| Hämatokritwert   | w | 0,013 (- 0,01 – 0,036)      | 0,062   | 0,267   | 0,004          |
|                  | m | 0,018 (0,001 – 0,035)       | 0,1     | 0,039   | 0,01           |



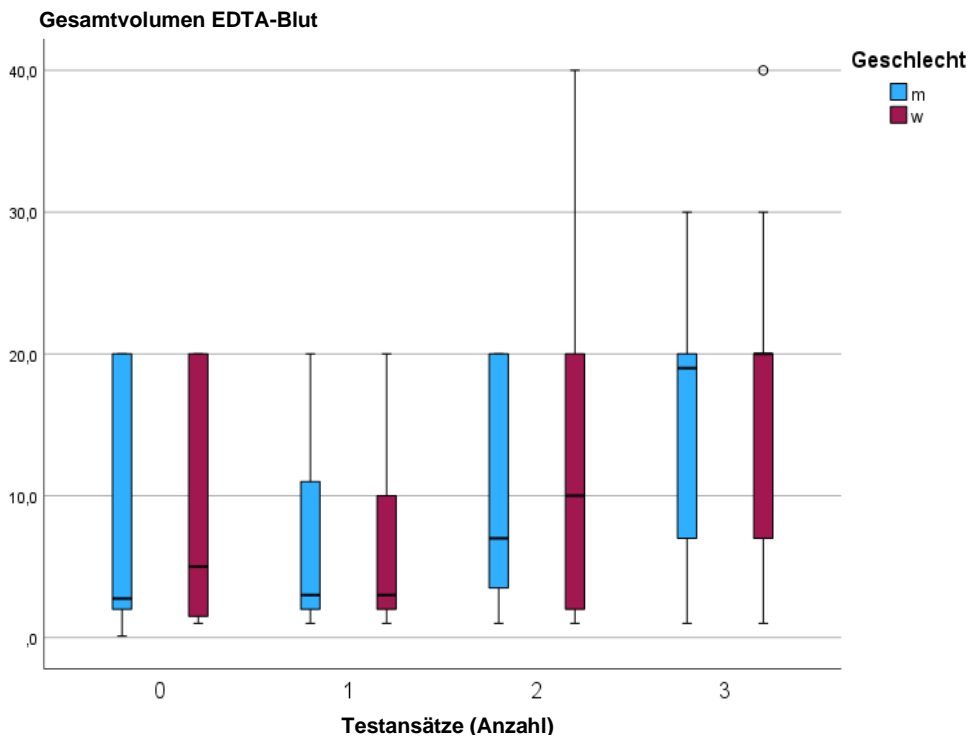
**Abbildung 15:** Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts



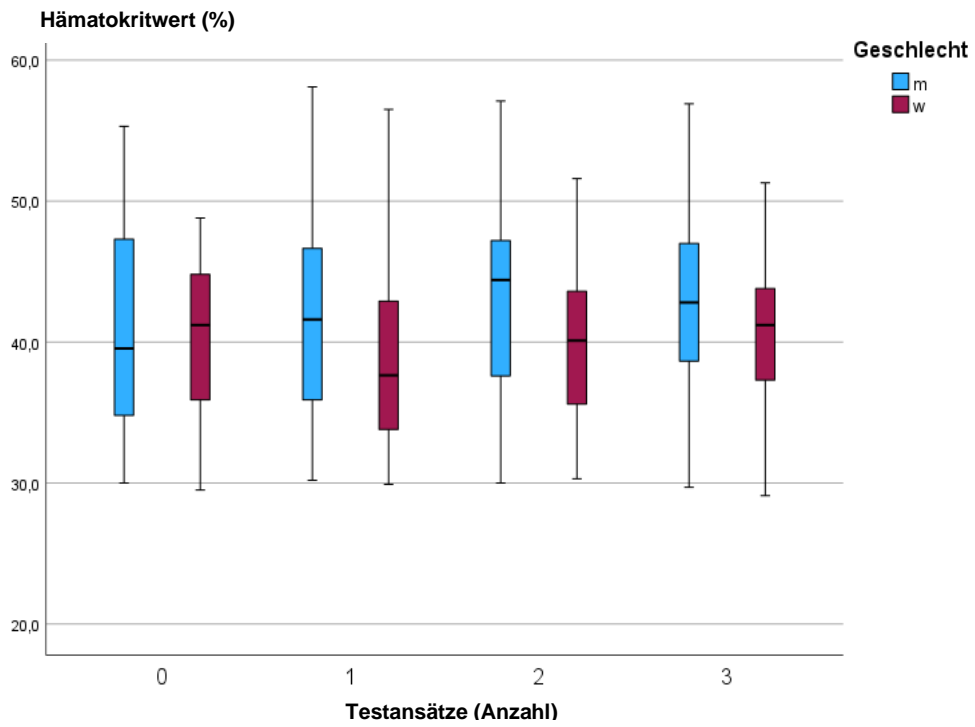
**Abbildung 16:** Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts



**Abbildung 17:** Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts



**Abbildung 18:** Zusammenhang zwischen dem Blutvolumen und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts



**Abbildung 19:** Zusammenhang zwischen dem Hämatokritwert und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts

### 4.3 Multivariate Regressionsanalyse der Parameter

Um das Analysemodell zu verbessern, wurden die zuvor als signifikant bewerteten Parameter in die multivariate Regressionsanalyse aufgenommen. Die abhängige Variable "Anzahl der Testansätze" und die Parameter "Zeitintervall", "Thrombozytenzahl", "Blutvolumen" und "Hämatokritwert" wurden innerhalb dieser rückwärtigen Analyse erneut betrachtet (siehe Tabelle 3). Dabei ergab der Parameter "Hämatokritwert" innerhalb der multivariaten Analyse keinen signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable, weshalb er aus dem finalen Prädiktionsmodell entfernt wurde.

**Tabelle 3:** Multivariate Regressionsanalyse der Parameter

|   | <b>Modell 1</b>                |                           |          |
|---|--------------------------------|---------------------------|----------|
| <b>Parameter</b>                                    | <b>b (95% KI)</b>              | <b><math>\beta</math></b> | <b>p</b> |
| <b>Zeitintervall (d)</b>                            | - 0,049<br>(- 0,079 – - 0,019) | - 0,094                   | 0,001    |
| <b>Thrombozytenzahl<br/>(pro <math>\mu</math>l)</b> | 0,021<br>(0,018 – 0,023)       | 0,526                     | < 0,001  |
| <b>Blutvolumen (ml)</b>                             | 0,055<br>(0,047 – 0,063)       | 0,385                     | < 0,001  |
| <b>Hämatokritwert (%)</b>                           | 0,002<br>(- 0,008 – 0,013)     | 0,013                     | 0,659    |
| <b>R<sup>2</sup></b>                                | 0,422                          |                           |          |

|   | <b>Modell 2 (finale Prädiktionsmodell)</b> |                           |          |
|---|--|---------------------------|----------|
| <b>Parameter</b>                                    | <b>b (95% KI)</b>                          | <b><math>\beta</math></b> | <b>p</b> |
| <b>Zeitintervall (d)</b>                            | - 0,048<br>(- 0,077 – - 0,018)             | - 0,091                   | 0,002    |
| <b>Thrombozytenzahl<br/>(pro <math>\mu</math>l)</b> | 0,021<br>(0,019 – 0,023)                   | 0,528                     | < 0,001  |
| <b>Blutvolumen (ml)</b>                             | 0,055<br>(0,047 – 0,063)                   | 0,385                     | < 0,001  |
| <b>Hämatokritwert (%)</b>                           | ---  | ---                       | ---      |
| <b>R<sup>2</sup></b>                                | 0,422                                      |                           |          |

Beide Modelle erklären 42,2 % der Varianz der abhängigen Variablen. Das zweite Modell verdeutlicht, dass die Parameter "Zeitintervall" ( $\beta = -0,091$ ), "Blutvolumen" ( $\beta = 0,385$ ) und "Thrombozytenzahl" ( $\beta = 0,528$ ) die Variable "Anzahl der Testansätze" beeinflussen.

#### 4.4 Auswertung mit dichotomen Prädiktoren

Im Folgenden fand eine dichotome Auswertung der Parameter "Zeitintervall", "Blutvolumen" und "Thrombozytenzahl" gegenüber der abhängigen Variablen "Anzahl der Testansätze" statt. Diese Parameter stellten sich innerhalb der vorherigen Analysen als besonders einflussreich dar. Der Trennwert für die Dichotomisierung erfolgte dabei nach subjektivem Ermessen, ohne Verwendung einer statistischen Analyseverfahren.

##### 4.4.1 Dichotome Auswertung des Zeitintervalls

Für die Auswertung wurde der Parameter "Zeitintervall" in die Zeitspanne null bis zwei Tage und mehr als zwei Tage unterteilt. Von 407 Patienten konnte die Blutprobe innerhalb von zwei Tagen analysiert werden. Dabei konnte bei 13,5 % (55) der Patienten die Diagnostik nicht durchgeführt werden. Daneben ermöglichten ebenfalls 13,5 % (55) der eingesendeten Blutproben lediglich einen Testansatz gegen GP IIb/IIIa. Bei 10,1 % (41) konnte das Testverfahren für zwei Glykoproteine angesetzt werden, wohingegen der Assay bei 62,9 % (256) dieser Patientengruppe in allen drei Ansätzen erfolgen konnte.

347 Blutproben benötigten zwischen der Blutentnahme und der Analyse mehr als zwei Tage. 15,0 % (52) dieser Patienten absolvierten keinen Durchlauf erfolgreich. Der Anteil, welcher einen Testansätze vollziehen konnte, lag bei 20,7 % (72), wohingegen 21,3 % (74) der Blutproben gegen GP IIb/IIIa und GP Ib/IX untersucht werden konnten. Bei 42,9 % (149) innerhalb dieser Patientengruppe konnte der Assay für alle drei Glykoproteine durchgeführt werden (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Dichotome Auswertung des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze

|   | Anzahl der Testansätze |                 |                 |                 | Total          |
|---|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|   | 0                      | 1               | 2               | 3               |                |
| <b>Zeitintervall</b><br><b>0 – 2 d</b>  | 13,5 %<br>(55)         | 13,5 %<br>(55)  | 10,1 %<br>(41)  | 62,9 %<br>(256) | 100 %<br>(407) |
| <b>Zeitintervall</b><br><b>&gt; 2 d</b> | 15,0 %<br>(52)         | 20,7 %<br>(72)  | 21,3 %<br>(74)  | 42,9 %<br>(149) | 100 %<br>(347) |
| <b>Total</b>                            | 14,2 %<br>(107)        | 16,8 %<br>(127) | 15,3 %<br>(115) | 53,7 %<br>(405) | 100 %<br>(754) |

#### 4.4.2 Dichotome Auswertung des Blutvolumens

Für den Faktor "Blutvolumen" fand eine Unterteilung des Volumens in weniger als acht Milliliter und mehr als acht Milliliter statt. Für 339 Patienten wurde ein Blutvolumen, das weniger als acht Milliliter betrug, bereitgestellt. Dabei absolvierten 20,6 % (70) keinen und 27,1 % (92) einen Durchlauf erfolgreich. Bei 17,4 % (59) funktionierte das Testverfahren gegen zwei Glykoproteine. 34,8 % (118) der Patientengruppe konnte den direkten MAIPA vollständig absolvieren.

Bei 415 Blutproben betrug das Volumen mehr als acht Milliliter. 8,9 % (37) dieser Patienten durchliefen keinen Testdurchlauf. Ein ähnlich kleiner Anteil (8,4 % (35)) konnte einen Testansatz vollziehen. Der gelungene Durchlauf gegen zwei Glykoproteine lag bei 13,5 % (56) der Patienten vor, wohingegen 69,2 % (287) der Kohorte den Assay vollständig absolvierte.

Daneben fand eine Gliederung des Blutvolumens von null bis 16 Milliliter und mehr als 16 Milliliter statt. Bei 447 Patienten betrug das Volumen der Blutprobe weniger als 16 Milliliter. Dabei konnte bei 16,3 % (73) der Patienten die Diagnostik nicht durchgeführt werden. Daneben ermöglichten 23,3 % (104) der eingesendeten Blutproben lediglich einen Testansatz gegen GP IIb/IIIa. Bei 17,2 % (77) konnte das Testverfahren für zwei Glykoproteine angesetzt werden, wohingegen der Assay bei 43,2 % (193) dieser Patientengruppe in allen drei Ansätzen erfolgen konnte.

307 Blutproben enthielten ein Volumen von mehr als 16 Milliliter. 11,1 % (34) dieser Patienten absolvierten keinen Durchlauf erfolgreich. Der Anteil, welcher einen Testansätze vollziehen konnte, lag bei 7,5 % (23), wohingegen 12,4 % (38) der Blutproben gegen GP IIb/IIIa und GP Ib/IX untersucht werden konnten. Bei 69,1 % (212) innerhalb dieser Patientengruppe konnte der Assay für alle drei Glykoproteine durchgeführt werden (siehe Tabelle 5).

**Tabelle 5:** Dichotome Auswertung des Blutvolumens gegenüber der Anzahl der Testansätze

|  | Anzahl der Testansätze |                 |                 |                 |                |
|--|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|  | 0                      | 1               | 2               | 3               | Total          |
| <b>Blutvolumen</b><br><b>&lt; 8 ml</b> | 20,6 %<br>(70)         | 27,1 %<br>(92)  | 17,4 %<br>(59)  | 34,8 %<br>(118) | 100 %<br>(339) |
| <b>Blutvolumen</b><br><b>&gt; 8 ml</b> | 8,9 %<br>(37)          | 8,4 %<br>(35)   | 13,5 %<br>(56)  | 69,2 %<br>(287) | 100 %<br>(415) |
| <b>Total</b>                           | 14,2 %<br>(107)        | 16,8 %<br>(127) | 15,3 %<br>(115) | 53,7 %<br>(405) | 100 %<br>(754) |

|   | Anzahl der Testansätze |                 |                 |                 |                |
|---|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|   | 0                      | 1               | 2               | 3               | Total          |
| <b>Blutvolumen</b><br><b>&lt; 16 ml</b> | 16,3 %<br>(73)         | 23,3 %<br>(104) | 17,2 %<br>(77)  | 43,2 %<br>(193) | 100 %<br>(447) |
| <b>Blutvolumen</b><br><b>&gt; 16 ml</b> | 11,1 %<br>(34)         | 7,5 %<br>(23)   | 12,4 %<br>(38)  | 69,1 %<br>(212) | 100 %<br>(307) |
| <b>Total</b>                            | 14,2 %<br>(107)        | 16,8 %<br>(127) | 15,3 %<br>(115) | 53,7 %<br>(405) | 100 %<br>(754) |

#### 4.4.3 Dichotome Auswertung der Thrombozytenzahl

Der Parameter "Thrombozytenzahl" wurde in ein Intervall von null bis 20.000 Thrombozyten /  $\mu\text{L}$  und mehr als 20.000 Thrombozyten /  $\mu\text{L}$  gruppiert. Bei 169 Blutproben lag eine Thrombozytenzahl unter 20.000 /  $\mu\text{L}$  vor. Dabei absolvierten 36,1 % (61) keinen Durchlauf erfolgreich. Bei 30,2 % (51) funktionierte das Testverfahren gegen ein Glykoprotein, wohingegen 21,9 % (37) der Kohorte zwei Testansätze des Assays absolvierten. Der vollständige Durchlauf des direkten MAIPA gelang bei 11,8 % (20) der Patienten.

585 Patienten wiesen eine Thrombozytenzahl über 20.000 /  $\mu\text{L}$  vor, wobei 7,9 % (46) keinen Testansatz durchliefen. Der Anteil, welcher einen bzw. zwei Testdurchläufe vollziehen konnte, verhielt sich ähnlich (1 Ta: 13,0 % (76); 2 Ta: 13,3 % (78)). Ein gelungener Testdurchlauf gegen alle drei Glykoproteine gelang bei 65,8 % (385) der Patienten (siehe Tabelle 6).

**Tabelle 6:** Dichotome Auswertung der Thrombozytenzahl gegenüber der Anzahl der Testansätze

|  | Anzahl der Testansätze |                 |                 |                 | Total          |
|--|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|  | 0                      | 1               | 2               | 3               |                |
| <b>Thrombozytenzahl<br/>0 – 20.000 / <math>\mu\text{L}</math></b>  | 36,1 %<br>(61)         | 30,2 %<br>(51)  | 21,9 %<br>(37)  | 11,8 %<br>(20)  | 100 %<br>(169) |
| <b>Thrombozytenzahl<br/>&gt; 20.000 / <math>\mu\text{L}</math></b> | 7,9 %<br>(46)          | 13,0 %<br>(76)  | 13,3 %<br>(78)  | 65,8 %<br>(385) | 100 %<br>(585) |
| <b>Total</b>   | 14,2 %<br>(107)        | 16,8 %<br>(127) | 15,3 %<br>(115) | 53,7 %<br>(405) | 100 %<br>(754) |

#### 4.4.4 Kombinierte dichotome Auswertung der Parameter

Mit Hilfe der zuvor festgelegten Trennwerte erfolgte eine Kombination der dichotomen Prädiktoren "Zeitintervall", "Blutvolumen" und "Thrombozytenzahl", um deren gegenseitigen Einfluss nachzuvollziehen (siehe Tabelle 7 und Abbildung 20).

Für die Kombination der Parameter "Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu$ L; Zeitintervall > 2 d und Blutvolumen < 8 ml" wurden insgesamt 32 Patienten zugeordnet. Dabei gelang bei 59,4 % (19) kein Testdurchlauf. Der erfolgreiche Durchlauf gegen ein Glykoprotein lag bei 31,3 % (10) der Patienten vor. Der Anteil, der zwei bzw. drei Testansätze vollziehen konnte, verhielt sich ähnlich (2 Ta: 6,3 % (2); 3 Ta: 3,1 % (1)).

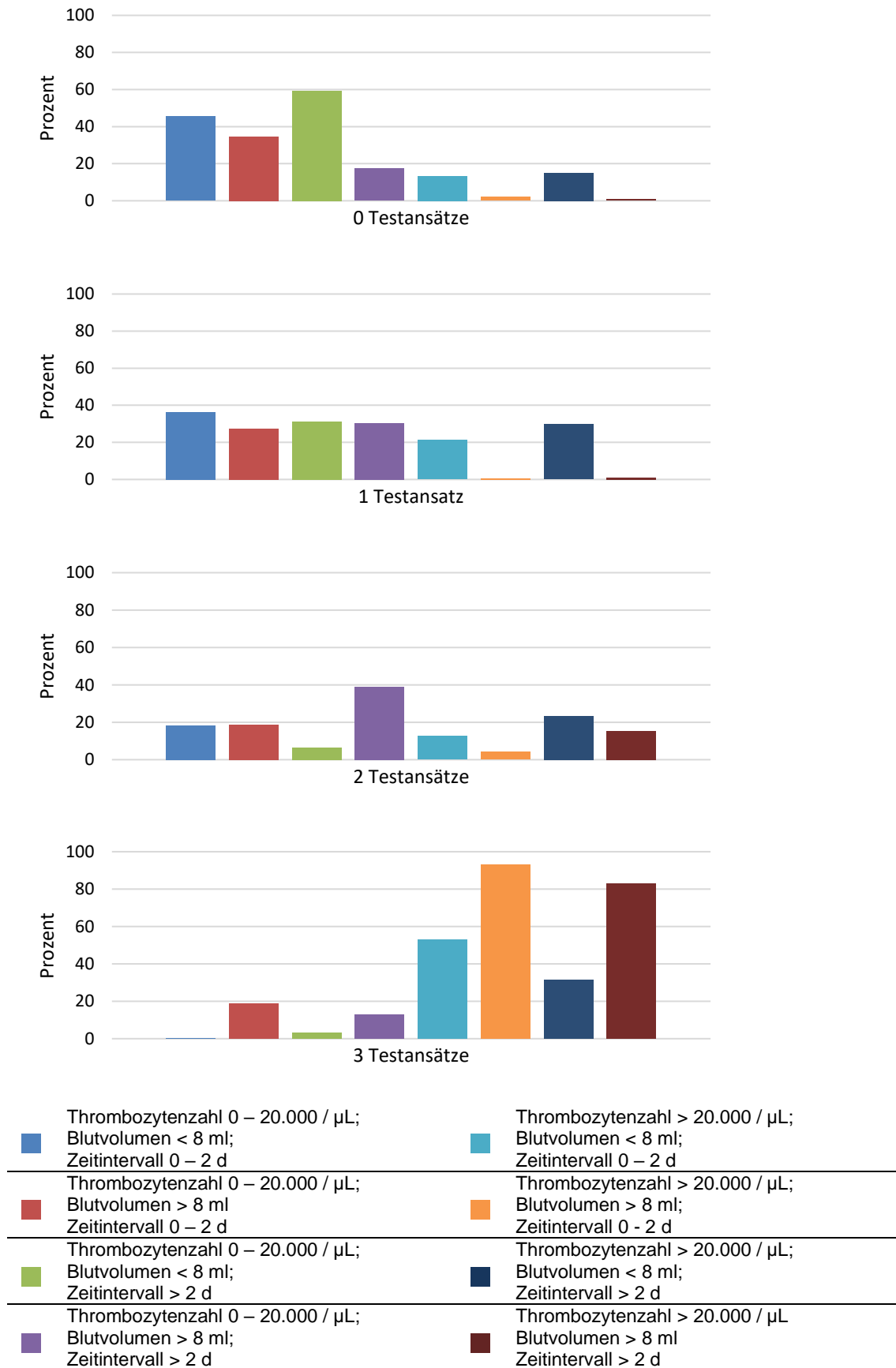
Der Kombination "Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu$ L; Zeitintervall 0 – 2 d und Blutvolumen > 8 ml" wurden 69 Patienten zugeordnet. Dabei absolvierten 34,8 % (24) keinen Testdurchlauf erfolgreich. Bei 27,5 % (19) funktionierte der Assay gegen ein Glykoprotein. Zwei bzw. drei Durchläufe gelangen bei jeweils 18,8 % (13).

Für die Verknüpfung der Prädiktoren "Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu$ L; Zeitintervall 0 – 2 d; Blutvolumen > 8 ml" qualifizierten sich 189 Patienten. Der Patientenanteil für das erfolgreiche Durchlaufen keines, eines und zweier Testansätze verhielt sich ähnlich (0 Ta: 2,1 % (4); 1 Ta: 0,5 % (1); 2 Ta: 4,2 % (8)). Ein gelungener Testdurchlauf gegen alle drei Glykoproteine gelang bei 93,1 % (176) der Patienten.

Für die Kombination der Parameter "Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu$ L; Zeitintervall > 2 d und Blutvolumen > 8 ml" wurden insgesamt 111 Patienten zugeordnet. Dabei gelang bei lediglich 0,9 % (1) kein Testdurchlauf. Der erfolgreiche Durchlauf gegen ein Glykoprotein lag ebenfalls bei 0,9 % (1) der Patienten vor. Der Anteil, der zwei Testansätze vollziehen konnte, lag bei 15,3 % (17). 82,9 % (92) der Patienten innerhalb dieser Kohorte konnten sowohl gegen GP IIb/IIIa, als auch die Glykoproteine Ib/IX bzw. V getestet werden.

**Tabelle 7:** Kombination der dichotomen Auswertung der Thrombozytenzahl, des Blutvolumens und des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze

|   | Anzahl der Testansätze |                 |                 |                 | Total          |
|---|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
|   | 0                      | 1               | 2               | 3               |                |
| - Thrombozytenzahl<br>0 – 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>< 8 ml<br>- Zeitintervall<br>0 – 2 d | 45,5 %<br>(10)         | 36,4 %<br>(8)   | 18,2 %<br>(4)   | 0 %<br>(0)      | 100 %<br>(22)  |
| - Thrombozytenzahl<br>0 – 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>> 8 ml<br>- Zeitintervall<br>0 – 2 d | 34,8 %<br>(24)         | 27,5 %<br>(19)  | 18,8 %<br>(13)  | 18,8 %<br>(13)  | 100 %<br>(69)  |
| - Thrombozytenzahl<br>0 – 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>< 8 ml<br>- Zeitintervall<br>> 2 d   | 59,4 %<br>(19)         | 31,3 %<br>(10)  | 6,3 %<br>(2)    | 3,1 %<br>(1)    | 100 %<br>(32)  |
| - Thrombozytenzahl<br>0 – 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>> 8 ml<br>- Zeitintervall<br>> 2 d   | 17,4%<br>(8)           | 30,4 %<br>(14)  | 39,1 %<br>(18)  | 13,0 %<br>(6)   | 100 %<br>(46)  |
| - Thrombozytenzahl<br>> 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>< 8 ml<br>- Zeitintervall<br>0 – 2 d   | 13,4 %<br>(17)         | 21,3 %<br>(27)  | 12,6 %<br>(16)  | 52,8 %<br>(67)  | 100 %<br>(127) |
| - Thrombozytenzahl<br>> 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>> 8 ml<br>- Zeitintervall<br>0 - 2 d   | 2,1 %<br>(4)           | 0,5 %<br>(1)    | 4,2 %<br>(8)    | 93,1 %<br>(176) | 100 %<br>(189) |
| - Thrombozytenzahl<br>> 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>< 8 ml<br>- Zeitintervall<br>> 2 d     | 15,2 %<br>(24)         | 29,7 %<br>(47)  | 23,4 %<br>(37)  | 31,6 %<br>(50)  | 100 %<br>(158) |
| - Thrombozytenzahl<br>> 20.000 / $\mu$ L<br>- Blutvolumen<br>> 8 ml<br>- Zeitintervall<br>> 2 d     | 0,9 %<br>(1)           | 0,9 %<br>(1)    | 15,3 %<br>(17)  | 82,9 %<br>(92)  | 100 %<br>(111) |
| <b>Total</b>  | 14,2 %<br>(107)        | 16,8 %<br>(127) | 15,3 %<br>(115) | 53,7 %<br>(405) | 100 %<br>(754) |



**Abbildung 20:** Kombination der dichotomen Auswertung der Thrombozytenzahl, des Blutvolumens und des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze

## 5 Diskussion

Der direkte monoklonale Antikörper-Immobilisationstest für plättchenspezifische Antigene wurde 1987 durch Kiefel et al. entwickelt und stellte damals einen Durchbruch für die Identifizierung von Thrombozyten-Autoantikörpern dar. Auf Grund der herausragenden diagnostischen Leistung etablierte sich dieser Assay international und gilt in der Thrombozytenimmunologie als Referenzmethode. Frühere Studien zeigten, dass die Glykoproteine IIb/IIIa, Ib/IX und V wichtige Zielantigene bei Patienten mit einer ITP sind (Stoy et al. 2012; Porcelijn et al. 2018). Dennoch ist bisher unklar, welche Faktoren den direkten MAIPA entscheidend beeinflussen, so dass eine Analyse der vorliegenden Autoantikörper innerhalb einer Blutprobe nicht mehr ausreichend möglich ist. Um zukünftig eine erfolgreiche Testdurchführung mit hoher Wahrscheinlichkeit vorherzusagen, wurden innerhalb dieser Studie die Parameter "Zeitintervall", "Patientenalter", "Thrombozytenzahl", "Blutvolumen", "Hämatokritwert" und "Geschlecht" hinsichtlich ihres Einflusses auf die abhängige Variable "Anzahl der Testansätze" untersucht. Hierfür qualifizierten sich 754 erwachsene Patienten, deren Blutproben in den Kalenderjahren 2020, 2021 und 2022 in der Transfusionsmedizin der Universitätsklinik Gießen analysiert wurden. Jede der Blutproben durchlief dabei bis zu drei Testansätze, wobei für jeden Ansatz eine Mindestanzahl von  $20 \times 10^6$  Thrombozyten benötigt wurde. Es erfolgte zunächst eine Untersuchung gegenüber GP IIb/IIIa. Innerhalb des zweiten Testansatzes fand eine Inkubation mittels monoklonaler Antikörper gegen GP Ib/IX statt, wohingegen sich der letzte Durchlauf gegen GP V richtete. In der vorliegenden Studie wurden zunächst die Zusammenhänge zwischen den betrachteten Parametern einzeln mittels linearer Regression überprüft, inwiefern sie die abhängige Variable "Anzahl der Testansätze" beeinflussen. Anschließend erfolgten eine multivariate Regressionsanalyse und eine dichotome Auswertung der signifikanten Prädiktoren.

### 5.1 Parameter mit geringem Einfluss auf den direkten MAIPA

Das Patientenkollektiv setzt sich aus 325 (43,1%) Frauen und 429 (56,9%) Männern zusammen, was einem Frauen-Männer-Verhältnis von 1:1,3 entspricht. In der Literatur wird ein gegensätzlicher Zusammenhang beschrieben, wobei weibliche Patienten mit einem Verhältnis von 1,7:1 häufiger von einer ITP betroffen sind (Frederiksen et al. 1999). Mittels einer univariaten Regressionsanalyse fand innerhalb dieser Studie eine getrennte Betrachtung der Parameter "Zeitintervall", "Patientenalter", "Thrombozytenzahl", "Blutvolumen" und "Hämatokritwert" für Frauen und Männer gegen die abhängigen Variablen "Anzahl Testansätze" statt. Dabei kann gezeigt werden, dass kein wesentlicher Unterschied zwischen den getesteten Parametern und dem Patientengeschlecht vorliegt. Die Zusammenhänge zwischen den getesteten Parametern und der Anzahl der Testansätze werden folglich unwesentlich durch das Geschlecht beeinflusst.

Der Altersmedian des aus 754 Patienten bestehenden Kollektivs liegt bei 65 Jahren (Frauen: 63 Jahre, Männer: 67 Jahre). Dieser Wert ist etwas höher, als in der Literatur angegeben. Der Median von ITP-Patienten beträgt dabei etwa 60 Jahre. Schoonen et al. beschreibt einen Inzidenzgipfel bei Männern im Alter von etwa 80 Jahren. Bei Frauen wurde beobachtet, dass die Inzidenz im jungen Erwachsenenalter bis zum 60. Lebensjahr annähernd konstant bleibt und in der Folge mit zunehmendem Alter ansteigt (Schoonen et al. 2009). Diese Zusammenhänge bestätigen sich auch in der vorliegenden Studie. Innerhalb der Regression verhalten sich das Patientenalter und die Anzahl der Testansätze nicht signifikant ( $p = 0,614$ ). Es scheint, dass die Analyse einer Blutprobe durch den direkten MAIPA unwesentlich durch das Patientengeschlecht und das Patientenalter beeinflusst wird.

Ein Einschlusskriterium, welches zur Teilnahme der Studie definiert wurde, ist ein Hämatokritwert zwischen 30 – 70 %. Die Blutbildanalyse von ITP-Patienten weist in der Regel einen isolierten Thrombozytenmangel auf, wohingegen sich Erythrozyten -und Leukozytenwerte normwertig verhalten. Da die Erythrozyten den weitaus größten Anteil des Hämatokritwertes ausmacht, liegt bei einer Immunthrombozytopenie häufig ein normwertiger Hämatokritwert (Frauen: 37 – 45 %; Männer: 43 – 49 %) vor. Diese Studie bestätigt diese Angaben. Der Gesamtmedian beträgt 41,6 %. Die univariate Regressionsanalyse zeigt, dass der Hämatokritwert signifikant mit der Anzahl der Testansätze korreliert ( $p = 0,027$ ), jedoch besteht nur ein schwacher Zusammenhang ( $\beta = 0,081$ ). Außerdem deutet sich an, dass ein höherer Hämatokritwert mit einer erfolgreichen Testdurchführung in Zusammenhang steht (Median: 0 Ta: 39,7 %; 1 Ta: 39,2 %; 2 Ta: 42,3 %; 3 Ta: 42,0 %). Mittels der multivariaten Regressionsanalyse bestätigt sich der geringe Einfluss des Hämatokritwerts auf den direkten MAIPA. So

verhält sich  $R^2$  für das erste Modell, welches den Hämatokritwert berücksichtigt, mit dem finalen Prädiktionsmodell, das den Hämatokritwert ausschließt, identisch ( $R^2 = 0,422$ ).

## 5.2 Parameter mit bedeutendem Einfluss auf den direkten MAIPA

Die medizinische Labordiagnostik von Thrombozyten fordert, um ein qualitativ hochwertiges Untersuchungsergebnis zu erhalten, eine gute Präanalytik. Ein wesentlicher Faktor, welchen es dabei neben dem Blutprobentransport und der Lagertemperatur zu berücksichtigen gilt, ist die Zeit, welche zwischen der Blutentnahme und der Analyse der Blutprobe vergeht. Grund dafür ist, dass es zu Veränderungen der hämatologischen Parameter mit anhaltender Lagerung der Blutprobe kommt (Wisgrill et al. 2016). Um zelluläre Veränderungen innerhalb der Blutprobe, wie beispielsweise der Thrombozytenaggregation oder der Freisetzung extrazellulärer Vesikel zu verringern, hat sich die Anreicherung der Blutprobe mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) bewährt (Sun et al. 2018). Dabei wird Calcium, welches innerhalb der Hämostase eine ganz wesentliche komplexbildende Funktion hat, gebunden und somit die Aktivierung von Gerinnungsfaktoren blockiert. Vogelaar et al. konnten zeigen, dass eine Alterung von EDTA-Blutproben für ca. 48 Stunden bei Raumtemperatur zu keiner Veränderung der Thrombozytenzahl führt. Blutproben, welche innerhalb dieser Studie nach 48 Stunden untersucht wurden, wiesen im Median eine reduzierte Thrombozytenzahl auf (Vogelaar et al. 2002). Desweiteren zeigte sich, dass, je nach Studienaufbau, auch die Konzentration von thrombozytären Mikrovesikeln bei einer Lagerung der Blutproben über einen Zeitraum bis zu sechs bzw. 48 Stunden, konstant bleibt. Mikrovesikel werden beispielsweise durch die Aktivierung oder auch die Apoptose von Thrombozyten freigesetzt und haben sich in den letzten Jahren als Biomarker zur Untersuchung der Blutgerinnung etabliert (Wisgrill et al. 2016; Buntsma et al. 2022). Folglich zeigt sich, dass eine möglichst schnelle Untersuchung der Blutproben nötig ist, um eine representative Aussage über hämatologische Parameter treffen zu können. Allerdings gestaltet sich dies im klinischen Alltag nicht selten schwierig. Blutproben die außerhalb der Sprechzeiten entnommen werden, die Logistik des Blutprobentransportes oder auch laborinterne Verarbeitungszeiten erschweren die Standardisierung der Labordiagnostik. Deshalb erfolgte innerhalb dieser Studie eine Analyse des "Zeitintervalls", inwiefern dieser Parameter Einfluss auf den Assay hat. Im Median beträgt das Zeitintervall zwei Tage. Sowohl die univariate, als auch multivariate Regressionsanalyse zeigt einen signifikanten Einfluss ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,002$ ) des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze. So ergab sich sowohl für die Patientengruppe 0 Ta wie auch 3 Ta ein Median von zwei Tagen, wodurch die Bedeutung des Parameters "Zeitintervall" zunächst nebensächlich zu sein scheint.

Allerdings belegt die dichotome Auswertung die Bedeutung dieser Einflussgröße. Das Patientenkollektiv wurde dazu in zwei Kohorten unterteilt, wobei innerhalb der Gruppe "Zeitintervall 0 - 2 Tage" 62,9 % (256) der Patienten alle drei Testansätze erfolgreich durchliefen. Außerdem war bei 13,5 % (55) der selbigen Gruppe kein Testansatz möglich. Die zweite Gruppe "Zeitintervall > 2 Tage" weist dagegen lediglich 42,9 % (149) der Patienten mit drei Testansätzen auf. Zudem war mit 15,0 % (52) der Anteil der Kohorte, die keinen Testansatz erfolgreich durchlaufen konnte, etwas größer. Folglich hat das Zeitintervall, das zwischen der Blutentnahme und der Antikörperanalyse vergeht, direkten Einfluss auf die erfolgreiche Blutanalyse mittels des direkten MAIPA. Dabei kann gezeigt werden, dass ein Zeitintervall von zwei Tagen nicht überschritten werden sollte, um eine aussagekräftige Antikörperanalyse durch den direkten MAIPA zu erhalten.

Durch Arztpraxen, Kliniken oder auch medizinische Versorgungszentren bereitgestellte Blutproben variieren in ihrem Volumen sehr stark. So schwankt das Blutvolumen innerhalb der vorliegenden Patientengruppe zwischen 0,1 ml und 40,0 ml, der Median liegt bei 12 ml. Begründen lässt sich dies durch Unwissenheit, unklare Praxisabläufe oder auch den Verlust des Blutvolumens im Rahmen anderer Testverfahren. Das Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin der Universitätsklinik Gießen empfiehlt, zwei Blutröhrchen mit jeweils acht Milliliter EDTA-Blut einzuschicken, um dieses mit Hilfe des direkten MAIPA zu analysieren. Man erhofft sich dadurch ein zuverlässiges Testergebnis zu erhalten. Bisher wurde dieses Volumen durch keine Untersuchung belegt und basiert ausschließlich auf Erfahrungswerten. Deshalb ist eines der Ziele dieser Studie, einen Bereich für das Blutvolumen zu identifizieren, der den erfolgreichen Ablauf des direkten MAIPA mit hoher Wahrscheinlichkeit vorhersagt. Auf diese Weise kann einerseits eine unnötig große Blutentnahme vermieden werden und andererseits lässt sich der Ressourcenverbrauch aufgrund unzureichender Testergebnisse minimieren. Bereits die univariate Regressionsanalyse in dieser Studie belegt, dass das verfügbare Blutvolumen die Qualität des direkten MAIPA beeinflusst. Die Studie weist einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem "Blutvolumen" und der "Anzahl der Testansätze" nach ( $p < 0,001$ ;  $\beta = 0,371$ ). Außerdem verhält sich der Median des Volumens mit zunehmender Anzahl an Testansätzen positiv ansteigend (Median: 0 Ta: 3 ml; 1 Ta: 3ml; 2 Ta: 8 ml; 3 Ta: 20 ml). Folglich erhöht sich die Wahrscheinlichkeit von erfolgreich durchlaufenen Testansätze mit steigendem Blutvolumen. Die multivariate Regressionsanalyse bestätigt den erheblichen Einfluss des Blutvolumens innerhalb des finalen Prädiktionsmodells ( $p < 0,001$ ;  $\beta = 0,385$ ). Folglich fand auch für den Parameter "Blutvolumen" eine dichotome Auswertung statt. Dabei wurde das Studienkollektiv in eine erste Gruppe "Blutvolumen < 8 ml" und eine zweite Gruppe "Blutvolumen > 8 ml"

unterteilt. Innerhalb der ersten Kohorte durchliefen 20,6 % (70) der Patienten keinen Testansatz erfolgreich, lediglich 34,8 % (118) der Patientengruppe konnten gegen alle drei Glykoproteine getestet werden. Dagegen zeigt sich in der zweiten Gruppe, in welcher mehr als acht Milliliter Blut analysiert wurden, dass 69,2 % (287) der Patienten einen erfolgreichen Durchlauf aller drei Testansätze aufweist. Zudem war nur bei 8,9 % (37) der Probanden innerhalb dieser Gruppe kein Testdurchlauf möglich. Daneben fand eine Gliederung des Patientenkollektivs in ein Blutvolumen von null bis 16 Milliliter und mehr als 16 Milliliter statt. Innerhalb der Patientengruppe, welche ein Blutvolumen kleiner 16 Milliliter aufwies, konnten 16,3 % (73) keinen der Testansätze durchlaufen, wohingegen der Assay bei 43,2 % (193) gegen alle drei Glykoproteine erfolgreich gelang. Betrug das Blutvolumen mehr als 16 Milliliter, reduzierte sich der Patientenanteil, welcher keinen Testansatz erfolgreich vollziehen konnte auf 11,1 % (34). 69,1 % (212) der Blutproben konnten gegen die Glykoproteine IIb/IIIa, Ib/IX und V untersucht werden. Es wurde nachgewiesen, dass das zur Antikörperanalyse bereitgestellte Blutvolumen den direkten MAIPA maßgeblich beeinflusst. Vergleicht man die dichotome Auswertung des Blutvolumens für acht Milliliter und 16 Milliliter gegenüber der Anzahl der Testansätze, so zeigt sich keine deutliche Abweichung. Die Anzahl der erfolgreich durchlaufenen Testansätze verhält sich nahezu identisch, lediglich die Werte für den erfolgreichen Durchlauf gegen alle drei Glykoproteine zeigen für "Blutvolumen < 8 ml" und "Blutvolumen < 16 ml" eine hervorzuhebende Abweichung von 8,4 %. Innerhalb dieser Studie kann somit ein Grenzwert von acht Millilitern festgelegt werden, welcher nicht unterschritten werden sollte, um die Diagnostik der ITP mittels des Assays mit hoher Wahrscheinlichkeit zu ermöglichen. Um in der Praxis ein zuverlässiges Testergebnis zu erhalten, einen möglichen Blutverlust auszugleichen und den Grenzwert nicht zu unterschreiten, empfiehlt es sich dennoch, zwei Blutröhrchen, mit einem Blutvolumen von jeweils acht Milliliter, bereitzustellen.

Die Grundlage des Antikörpernachweises durch den direkten MAIPA ist eine mit EDTA antikoagulierte Blutprobe, aus der Thrombozyten isoliert werden. Daher soll im Rahmen dieser Studie geklärt werden, inwieweit die Thrombozytenzahl einer Blutprobe den Assay beeinflusst. Das Krankheitsbild der ITP ist mit einer Thrombozytenanzahl unter 100.000 /  $\mu\text{L}$  definiert (Rodeghiero et al. 2009; Stasi et al. 2011). Dieser Grenzwert galt auch für die Qualifikation des betrachteten Patientenkollektivs innerhalb der vorliegenden Studie. Im Median liegt die Thrombozytenzahl der Kohorte bei 49.500 /  $\mu\text{L}$ . Die univariate Regressionsanalyse zeigt, dass die Anzahl an erfolgreich durchlaufenen Testdurchläufen mit einer höheren Thrombozytenzahl positiv ansteigt. Der Median beträgt für die Untergruppen 0 Ta: 12 / nl, 1 Ta: 28 / nl, 2 Ta: 31 / nl und 3 Ta: 64 / nl. Es liegt ein signifikanter Zusammenhang zwischen der "Anzahl der Testansätze" und der

“Thrombozytenzahl“ vor ( $\beta = 0,499$ ;  $p < 0,001$ ). Das finale Modell der multivariaten Regressionsanalyse bestätigt den bedeutenden Einfluss der Thrombozytenzahl auf den Assay ( $\beta = 0,528$ ;  $p < 0,001$ ). Neben dem “Zeitintervall“ und dem “Blutvolumen“ zeigt das Analysemodell, dass die “Thrombozytenzahl“ den stärksten Einfluss der getesteten Parameter auf die abhängige Variable “Anzahl der Testansätze“ hat. Begründen lässt sich dies durch die reduzierte Thrombozytenzahl, welche mit einer erschwerten Untersuchung von Glykoproteinen, auf eine Beladung mit Autoantikörpern, verbunden ist. Für die dichotome Auswertung wurde das Patientenkollektiv in die Gruppe “Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu\text{L}$ “ und eine zweite Gruppe “Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu\text{L}$ “ unterteilt. Es zeigt sich, dass der größte Teil der Kohorte mit geringer Thrombozytenzahl gegen kein bzw. nur ein Glykoprotein getestet werden konnte (0 Ta: 36,1 % (61); 1 Ta: 30,2 % (51)). Zudem durchliefen lediglich 11,8 % (20) der Gruppe alle drei Testansätze erfolgreich. In der zweiten Kohorte zeigt sich gegenteiliges. Liegt die Thrombozytenzahl über 20.000 /  $\mu\text{L}$ , so konnten 65,8 % (385) der Gruppe das Testverfahren vollständig absolvieren. Bei einzig 7,9 % (46) war kein Testansatz gegen GP IIb/IIIa, GP Ib/IX oder GP V möglich. Die Analyse macht deutlich, dass eine hohe Thrombozytenzahl mit einer größeren Wahrscheinlichkeit korreliert, ein aussagekräftiges Ergebnis durch den direkten MAIPA zu erzielen. Die Auswertung zeigt dies bei einem Thrombozytengrenzwert von 20.000 /  $\mu\text{L}$ . Aktuelle Leitlinien beschreiben ein erhöhtes Risiko schwerer Blutungen bei ITP-Patienten, sofern die Thrombozytenzahl unter 20.000 /  $\mu\text{L}$  liegt (Khellaf et al. 2005; Matzdorff et al. 2018). Daher ist die Diagnostik der Immunthrombozytopenie durch den direkten MAIPA innerhalb dieser Patientengruppe erschwert.

Um dennoch eine möglichst vollständige Testdurchführung sicherzustellen, sollten andere Parameter den Assay katalysieren. Da sich neben der “Thrombozytenzahl“ auch die Variablen “Blutvolumen“ und “Zeitintervall“ als besonders einflussreich herausgestellt haben, wurde in dieser Studie ebenfalls untersucht, inwieweit sich diese Prädiktoren gegenseitig und das Testverfahren beeinflussen. Hierzu erfolgte eine Kombination der Gruppen, die zuvor innerhalb der dichotomen Auswertung gebildet wurden (Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu\text{L}$  oder Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu\text{L}$ ; Blutvolumen < 8 ml oder Blutvolumen > 8 ml; Zeitintervall 0 – 2 d oder Zeitintervall > 2 d). Wie aus der vorherigen Analyse zu erwarten, sind für die Kombination “Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu\text{L}$ , Blutvolumen > 8 ml und Zeitintervall 0 – 2 d“ die günstigsten Voraussetzungen gegeben, um eine Blutprobe erfolgreich zu analysieren. Dabei konnten bei 93 % (176) der Kohorte alle Testansätze vollzogen werden. Insgesamt wird der bedeutende Einfluss der Thrombozytenzahl erneut deutlich. Liegt die Anzahl der Thrombozyten im hohen Bereich, so ist bei einer deutlichen Mehrheit die

erfolgreiche Testdurchführung möglich. Für die Kombinationen mit einer Thrombozytenzahl unter 20.000 /  $\mu\text{L}$  gilt das Gegenteil. Dennoch zeigt sich für die Gruppe "Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu\text{L}$ , Blutvolumen < 8 ml und Zeitintervall > 2 d", dass die Parameter "Blutvolumen" und "Zeitintervall" den direkten MAIPA wesentlich beeinflussen. Der Anteil der Patienten innerhalb dieser Kohorte verteilt sich gleichmäßiger auf die Anzahl der Testansätze, wodurch die Wahrscheinlichkeit der vollständigen Testdurchführung sinkt (0 Ta: 15,2 % (24); 1 Ta: 29,7 % (47); 2 Ta: 23,4 % (37); 3 Ta: 31,6 % (50)). Die Verknüpfung der Variablen "Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu\text{L}$ , Blutvolumen < 8 ml und Zeitintervall > 2 d" ergibt in der dichotomen Auswertung das ungünstigste Ergebnis. Bei 90,7 % (29) der Patienten ist maximal ein Testansatz möglich, wovon 59,4 % (19) keinen erfolgreichen Durchlauf eines Testansatzes aufweisen. Für das Diagnostikverfahren der ITP durch den direkten MAIPA gilt es, ein solch unzufriedenstellendes Testergebnis zu vermeiden. Die beiden Parameter "Zeitintervall" und "Blutvolumen" sind direkt beeinflussbar. Deshalb stellt sich die Frage, inwieweit diese Parameter eine niedrige Thrombozytenzahl ausgleichen können, um dennoch ein zufriedenstellendes Testergebnis zu erhalten. Die dichotome Auswertung zeigt, dass dies ein Stück weit möglich ist. So ergibt sich für die Kombination "Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu\text{L}$ , Blutvolumen > 8 ml und Zeitintervall 0 – 2 d" ein Ergebnis für 0 Ta: 34,8 % (24), 1 Ta: 27,5 % (19), 2 Ta: 18,8 % (13) und 3 Ta: 18,8 % (13). Folglich haben ein kleines Zeitintervall und ein großes Blutvolumen, trotz niedriger Thrombozytenzahlen, einen positiven Einfluss auf das Testverfahren. Daher sollten diese beiden Parameter innerhalb der ITP-Diagnostik besonders berücksichtigt werden, insbesondere bei Patienten mit einer deutlich verringerten Thrombozytenzahl unter 20.000 /  $\mu\text{L}$ .

### 5.3 Fazit

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass die Parameter "Patientengeschlecht", "Patientenalter" und "Hämatokritwert" den Ablauf des direkten MAIPA nur geringfügig beeinflussen. Vielmehr waren es die Variablen "Zeitintervall", "Blutvolumen" und "Thrombozytenzahl", welche den direkten MAIPA entscheidend modulieren, um Antikörper gegen die Glykoproteine IIb/IIIa, Ib/IX und V zu detektieren. Dabei konnte der vergangenen Zeit zwischen der Blutentnahme und der Blutanalyse ein nicht zu vernachlässigender Einfluss zugesprochen werden. Das zur Verfügung stehende Blutvolumen für den Test, hatte allerdings einen wesentlicheren Einfluss. Der weitaus bedeutendste Effekt auf den Assay wurde bei der Thrombozytenzahl nachgewiesen. Durch die Analyse der Variablen nach Dichotomisierung wurden in dieser Studie Grenzwerte identifiziert, die zu einem zufriedenstellenden Resultat des direkten MAIPA führten. Die Untersuchung ergab, dass ein Zeitintervall von null bis zwei Tagen, ein für die Analyse zur Verfügung stehendes Blutvolumen von mehr als acht Millilitern und eine Thrombozytenzahl über 20.000 /  $\mu\text{L}$  zu einem positiven Testresultat führten. Allerdings ist ein Nachteil der Studie, dass die Trennwerte für die Dichotomisierung ohne eine statistische Analyseverfahren, sondern nach subjektivem Ermessen festgelegt wurden. Nachfolgende Untersuchungen sollten deshalb klären, ob die hier definierten Grenzbereiche bestätigt bzw. noch weiter eingegrenzt werden können.

Mit dem Zeitintervall und dem Blutvolumen fanden sich in dieser Studie zwei beeinflussbare Variablen, welche auf den direkten MAIPA einwirken. Dabei deutet sich an, dass eine niedrige Thrombozytenzahl unter 20.000 /  $\mu\text{L}$  durch ein kurzes Zeitintervall und ein Blutvolumen von mehr als acht Millilitern möglicherweise ein Stück weit ausgeglichen werden kann. So reduzierte sich innerhalb dieser Gruppen der Anteil an Patienten, die keinen Testansatz durchlaufen konnten von 59,4 % auf 34,8 %. Um die Wahrscheinlichkeit einer zufriedenstellenden Analyse zu erhöhen, auch bei Patienten mit sehr niedrigen Thrombozytenzahlen, sollten deshalb diese beiden Parameter in der ITP-Diagnostik besonders berücksichtigt werden. Dadurch kann eine unnötig große Blutabnahme vermieden und der Ressourcenverbrauch, aufgrund unzureichender Testergebnisse, minimiert werden. Begründet durch eine aufwendige Prädiagnostik, das umfangreiche Diagnostikverfahren, der damit verbundenen Bürokratie und den daraus resultierenden kostenintensiven Therapieansätzen, fallen nicht selten jährliche Kosten bis zu 60.000 € zur Behandlung einer Immunthrombozytopenie an. Besonders kostspielig, aber effektiv, ist dabei die Therapie durch Thrombopoietin-Rezeptor-Agonisten (Gemeinsamer Bundesausschuss 2020). Durch eine effiziente Labordiagnostik könnten diese Kosten gesenkt werden. Die Kommunikation und Aufklärung entsprechender medizinischer Einrichtungen, die Optimierung von

Transportwegen und die Einführung eines Testprotokolls, das die Rahmenbedingungen des direkten MAIPA definiert, sind deshalb dringend erforderlich. Der direkte MAIPA besitzt eine herausragende diagnostische Leistung und könnte, daher in die Routineuntersuchung der Immunthrombozytopenie aufgenommen werden. Jeder Patient mit dem Verdacht einer ITP sollte die Möglichkeit haben, sich einem direkten MAIPA zum Nachweis von Thrombozyten-Autoantikörpern zu unterziehen.

## 6 Zusammenfassung

Der Immuntrombozytopenie liegt eine Autoimmunreaktion gegen Thrombozyten und Megakaryozyten zu Grunde, in deren Folge die Thrombozytenzahlen im peripheren Blut unter 100.000 /  $\mu\text{L}$  abfallen. Im Rahmen der ITP-Diagnostik konnte sich der direkte MAIPA als Referenzmethode zum Nachweis von Autoantikörpern gegen Glykoproteine auf Thrombozyten etablieren (vor allem GP IIb/IIIa, Ib/IX und V). Es ist bisher unklar, welche Faktoren den direkten MAIPA entscheidend beeinflussen, so dass eine Analyse aller relevanten Glykoproteine nicht mehr ausreichend möglich ist. Im Rahmen dieser Studie wurde untersucht, inwieweit die Parameter "Patientenalter", "Patientengeschlecht", "Hämatokritwert", "Zeitintervall", "Blutvolumen" und "Thrombozytenzahl" auf die abhängige Variable "Anzahl der Testansätze" einwirken und somit die Durchführung des direkten MAIPA beeinflussen. Dazu wurde die Datenauswertung eines Patientenkollektivs mit 754 Teilnehmern durchgeführt. Es zeigte sich, dass der direkte MAIPA unwesentlich durch das "Patientenalter", das "Patientengeschlecht" und den "Hämatokritwert" beeinflusst wird. Vielmehr haben neben dem "Zeitintervall", welches zwischen der Blutabnahme und der Blutanalyse vergeht, auch das für die Analyse bereitgestellte "Blutvolumen", sowie die "Thrombozytenzahl" einen maßgeblichen Einfluss. Dabei konnten zusätzlich Grenzwerte festgelegt werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit in einer vollständigen Testdurchführung resultieren. Für ein Zeitintervall von unter zwei Tagen, lag der Patientenanteil, welcher den direkten MAIPA vollständig durchlaufen konnte, höher, verglichen mit den Patienten, welche ein Zeitintervall von mehr als zwei Tagen aufwiesen. Die Aufteilung der Kohorte mittels eines Blutvolumens von mehr bzw. weniger als acht Millilitern zeigte, dass ein großes zur Analyse bereitstehendes Blutvolumen mit höherer Wahrscheinlichkeit zu einem zufriedenstellendem Testergebnis führt. Die Bedeutung der Thrombozytenzahl wurde durch die Einteilung der Kohorte in zwei Gruppen mit einem Grenzwert von 20.000 Thrombozyten /  $\mu\text{L}$  deutlich. Der Patientenanteil, welcher eine höhere Thrombozytenzahl aufwies, konnte mit einer deutlich höheren Wahrscheinlichkeit die Testdurchführung gegen alle drei Glykoproteine vollziehen. Weiterhin stellte sich heraus, dass die Kombination der Parameter "Thrombozytenzahl 0 – 20.000 /  $\mu\text{L}$ ; Blutvolumen < 8 ml; Zeitintervall > 2 d" die ungünstigsten Voraussetzungen für den Assay liefert. Vielmehr sollte die Einhaltung der Parameter "Thrombozytenzahl > 20.000 /  $\mu\text{L}$ ; Blutvolumen > 8 ml; Zeitintervall 0 – 2 d" angestrebt werden, um ein zuverlässiges Testergebnis zu erhalten. Durch die Einführung eines entsprechenden Testprotokolls können zukünftig Ressourcen gespart und die ITP-Diagnostik durch den direkten MAIPA verbessert werden.

## 7 Summary

Immune thrombocytopenia is based on an autoimmune reaction against platelets and megakaryocytes, as a result of which the platelet count in the peripheral blood falls below  $100.000 / \mu\text{L}$ . In ITP diagnostics, the direct MAIPA has established itself as a reference method for the detection of autoantibodies against glycoproteins on platelets (especially GP IIb/IIIa, Ib/IX and V). It is still unclear which factors have a decisive influence on the direct MAIPA, so that it is no longer possible to analyse all relevant glycoproteins sufficiently. This study investigated the extent to which the parameters "patient age", "patient sex", "haematocrit value", "time interval", "blood volume" and "platelet count" have an effect on the dependent variable "number of test approaches" and thus influence the performance of the direct MAIPA. For this purpose, the data of a patient collective with 754 participants was analysed. It was found that the direct MAIPA was insignificantly influenced by "patient age", "patient sex" and "haematocrit value". Rather, in addition to the "time interval" between blood collection and blood analysis, the "blood volume" provided for the analysis and the "platelet count" also have a significant influence. In addition, limit values could be defined that result in a high probability of complete test performance. The proportion of patients who were able to complete the direct MAIPA was higher for a time interval of less than two days as compared to patients who had a time interval of more than two days. The division of the cohort by blood volume of more or less than eight millilitres showed that a large volume of blood available for analysis is more likely to lead to a satisfactory test result. The significance of the platelet count was made clear by dividing the cohort into two groups with a cut-off value of  $20.000$  platelets /  $\mu\text{L}$ . The proportion of patients with a higher platelet count was significantly more likely to complete the test against all three glycoproteins. Furthermore, it was found that the combination of the parameters "platelet count  $0 - 20.000 / \mu\text{L}$ ; blood volume  $< 8$  ml; time interval  $> 2$  d" provides the least favourable conditions for the assay. Instead the parameters "platelet count  $> 20.000 / \mu\text{L}$ ; blood volume  $> 8$  ml; time interval  $0 - 2$  d" should be aimed for in order to obtain a reliable test result. By introducing a corresponding test protocol, resources can be saved in the future and ITP diagnostics can be improved through direct MAIPA.

# Abbildungsverzeichnis

|  |    |
|--|----|
| <b>Abbildung 1:</b> Einteilung der ITP anhand der Dauer seit Diagnosestellung<br>(nach Rodeghiero 2009).....   | 6  |
| <b>Abbildung 2:</b> Basisdiagnostik bei Verdacht einer ITP (nach Matzdorff 2018) .....   | 11 |
| <b>Abbildung 3:</b> Erweiterte Diagnostik bei Verdacht einer ITP (nach Matzdorff 2018) .....   | 12 |
| <b>Abbildung 4:</b> Therapiekonzept der ITP (nach Matzdorff 2018 und Provan 2019) .....  | 14 |
| <b>Abbildung 5:</b> Anzustrebende Thrombozytenwerte bei zahnärztlichen<br>Behandlungsmaßnahmen (nach Matzdorff 2018) .....   | 21 |
| <b>Abbildung 6:</b> Verteilung der Arztpraxen, Kliniken und medizinischen<br>Versorgungszentren, der sich qualifizierenden Patienten .....                             | 24 |
| <b>Abbildung 7:</b> Altersverteilung des Patientenkollektivs .....   | 27 |
| <b>Abbildung 8:</b> Volumenverteilung der eingesendeten Blutproben .....   | 28 |
| <b>Abbildung 9:</b> Zeitintervall zwischen Blutabnahme und Verarbeitung der Blutproben .....   | 29 |
| <b>Abbildung 10:</b> Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall<br>und der Anzahl der Testansätze .....   | 31 |
| <b>Abbildung 11:</b> Zusammenhang zwischen dem Patientenalter<br>und der Anzahl der Testansätze .....  | 32 |
| <b>Abbildung 12:</b> Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl<br>und der Anzahl der Testansätze .....  | 33 |
| <b>Abbildung 13:</b> Zusammenhang zwischen dem Blutvolumen<br>und der Anzahl der Testansätze .....   | 34 |
| <b>Abbildung 14:</b> Zusammenhang zwischen dem Hämatokritwert<br>und der Anzahl der Testansätze .....  | 35 |
| <b>Abbildung 15:</b> Zusammenhang zwischen dem Zeitintervall<br>und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts .....                            | 37 |
| <b>Abbildung 16:</b> Zusammenhang zwischen dem Patientenalter<br>und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts .....                           | 37 |
| <b>Abbildung 17:</b> Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl<br>und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts .....                         | 38 |
| <b>Abbildung 18:</b> Zusammenhang zwischen dem Blutvolumen<br>und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts .....                              | 38 |
| <b>Abbildung 19:</b> Zusammenhang zwischen dem Hämatokritwert<br>und der Anzahl der Testansätze unter Berücksichtigung des Geschlechts .....                           | 39 |
| <b>Abbildung 20:</b> Kombination der dichotomen Auswertung der Thrombozytenzahl, des<br>Blutvolumens und des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze ..... | 47 |

## Tabellenverzeichnis

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabelle 1:</b> Univariate Regressionsanalyse der Parameter.....  | 30 |
| <b>Tabelle 2:</b> Univariate Regressionsanalyse der Parameter unter<br>Berücksichtigung des Geschlechts .....   | 36 |
| <b>Tabelle 3:</b> Multivariate Regressionsanalyse der Parameter .....   | 40 |
| <b>Tabelle 4:</b> Dichotome Auswertung des Zeitintervalls<br>gegenüber der Anzahl der Testansätze .....   | 41 |
| <b>Tabelle 5:</b> Dichotome Auswertung des Blutvolumens<br>gegenüber der Anzahl der Testansätze .....   | 43 |
| <b>Tabelle 6:</b> Dichotome Auswertung der Thrombozytenzahl<br>gegenüber der Anzahl der Testansätze .....   | 44 |
| <b>Tabelle 7:</b> Kombination der dichotomen Auswertung der Thrombozytenzahl,<br>des Blutvolumens und des Zeitintervalls gegenüber der Anzahl der Testansätze ..... | 46 |

## Literaturverzeichnis

**Abrahamson P**, Hall S, Feudjo-Tepie M, Mitrani-Gold F, Logie J: The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura among adults: a population-based study and literature review.

*European Journal of Haematology* **2009**; 83(2): 83-89

**Ahn Y**, Horstman L, Jy W, Jimenez J, Bowen B: Vascular dementia in patients with immune thrombocytopenic purpura.

*Thrombosis Research* **2002**; 107(6): 337-344

**Akkerman J**: Thrombopoietin and platelet function.

*Seminars in Thrombosis and Hemostasis* **2006**; 32(3):295-304

**Aster R**, Curtis B, McFarland J, Bougie D: Drug-induced immune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis, and management.

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2009**; 7(6): 911-918

**Bansal N**, Jindal M, Gupta N, Shukla P: Clinical guidelines for periodontal management of idiopathic thrombocytopenic purpura: Current considerations.

*International Journal of Oral Health Sciences* **2017**; 7: 30-34

**Baumann A**, Ostermann H, Falkner von Sonnenburg F, Reiser M: Immunthrombozytopenie - Krankheitsverlauf und Kosten der primären ITP in Deutschland.

**2012**; S. 69

**Bizzaro N**: EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical and epidemiological study of 112 cases, with 10-year follow-up.

*American Journal of Hematology* **1995**; 50: 103-109

**Boyle S**, White R, Brunson A, Wun T: Splenectomy and the incidence of venous thromboembolism and sepsis in patients with immune thrombocytopenia.

*Blood* **2013**; 121(23): 4782-4790

**Brighton T**, Evans S, Castaldi P, Chesterman C, Chong B: Prospective evaluation of the clinical usefulness of an antigen-specific assay (MAIPA) in idiopathic thrombocytopenic purpura and other immune thrombocytopenias.

*Blood* **1996**; 88(1): 194-201

**Buntsma NC**, Gąsecka A, Roos YBWEM, van Leeuwen TG, van der Pol E, Nieuwland R: EDTA stabilizes the concentration of platelet-derived extracellular vesicles during blood collection and handling.

*Platelets* **2022**; 33(5): 764-771

**Butros L**, Bussel J: Intracranial hemorrhage in immune thrombocytopenic purpura: a retrospective analysis.

*Journal of Pediatric Hematology/Oncology* **2003**; 25(8): 660-664

**Cines D**, Bussel J, Liebman H, Prak E: The ITP syndrome: pathogenic and clinical diversity.

*Blood* **2009**; 113: 6511-6521

**Connell NT**, Berliner N: Fostamatinib for the treatment of chronic immune thrombocytopenia.

*Blood* **2019**; 133(19): 2027-2030

**Cooper N**, Arnold DM: The effect of rituximab on humoral and cell mediated immunity and infection in the treatment of autoimmune diseases.

*British Journal of Haematology* **2010**; 149(1): 3-13

**Cortelazzo S**, Finazzi G, Buelli M, Molteni A, Viero P, Barbui T: High risk of severe bleeding in aged patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura.

*Blood* **1991**; 77(1): 31-33

**Ekstrand C**, Linder M, Cherif H, Kieler H, Bahmanyar S: Increased susceptibility to infections before the diagnosis of immune thrombocytopenia.

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2016**; 14(4): 807-814

**Emmons R**, Reid D, Cohen R, Meng G, Young N, Dunbar C, Shulman N: Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increased platelet destruction.

*Blood* **1996**; 87(10): 4068-4071

**Feudjo-Tepie M**, Robinson N, Bennett D: Prevalence of diagnosed chronic immune thrombocytopenic purpura in the US: analysis of a large US claim database: a rebuttal.

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2008**; 6(4): 711-712

**Fielder P**, Gurney A, Stefanich E, Marian M, Moore M, Carver-Moore K, de Sauvage F: Regulation of thrombopoietin levels by c-mpl-mediated binding to platelets.

*Blood* **1996**; 87(6): 2154-2161

**Frederiksen H**, Schmidt K: The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age.

*Blood* **1999**; 94(3): 909-913

**Frith J**, Watson S, Bolton Maggs P, Newton J: Cognitive symptoms are common in immune thrombocytopenia and associate with autonomic symptom burden.

*European Journal of Haematology* **2012**; 88(3): 224-228

**Froom P**, Barak M: Prevalence and course of pseudothrombocytopenia in outpatients.

*Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* **2011**; 49(1): 111-114

**Gemeinsamer Bundesausschuss**: Tragende Gründe zum Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie (AM-RL): Anlage XII – Nutzenbewertung von Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen nach § 35a SGB V Fostamatinib (Chronische Immunthrombozytopenie).

[https://www.g-ba.de/downloads/40-268-7150/2020-12-17\\_AM-RL-XII\\_Fostamatinib\\_D-556\\_TrG.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/40-268-7150/2020-12-17_AM-RL-XII_Fostamatinib_D-556_TrG.pdf) **2020**; letzter Aufruf: 10.05.2024

**George J**, Aster R: Drug-induced thrombocytopenia: pathogenesis, evaluation, and management.

*American Society of Hematology Education Program* **2009**; 153-158

**Gernsheimer T**, Stratton J, Ballem P, Slichter S: *Mechanisms of response to treatment in autoimmune thrombocytopenic purpura.*

*New England Journal of Medicine* **1989**; 320(15): 974-980

**Ghanima W**, Cooper N, Rodeghiero F, Godeau B, Bussel J: Thrombopoietin receptor agonists: ten years later.

*Haematologica* **2019**; 104(6): 1112-1123

**Grimaldi-Bensouda L**, Nordon C, Michel M, Viallard J, Adoue D, Magy-Bertrand N, Durand J, Quittet P, Fain O, Bonnotte B, Morin A, Morel N, Costedoat-Chalumeau N, Pan-Petes B, Khellaf M, Perlat A, Sacre K, Lefrere F, Abenheim L, Godeau B: Immune thrombocytopenia in adults: a prospective cohort study of clinical features and predictors of outcome.

*Haematologica* **2016**; 101(9):1039-1045

**Hallan D**, Simion C, Sciscent B, Lee J, Rizk E: Immune Thrombocytopenic Purpura and Intracerebral Hemorrhage, Incidence, and Mortality.

*Cureus Journal of Medical Science* **2022**; 14(4)

**Handin R**, Stossel T: Effect of corticosteroid therapy on the phagocytosis of antibody-coated platelets by human leukocytes.

*Blood* **1978**; 51(5): 771-779

**Harrington W**, Minnich V, Holingsworth J, Moore C: Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura.

*Journal of Laboratory and Clinical Medicine* **1951**; 38(1): 1-10

**Hedman A**, Henter J, Hedlund I, Elinder G: Prevalence and treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood in Sweden.

*Acta Paediatrica* **1997**; 86(2): 226-227

**Houwerzijl E**, Blom N, van der Want J, Esselink M, Koornstra J, Smit J, Louwes H, Vellenga E, de Wolf J: Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura.

*Blood* **2004**; 103(2): 500-506

**Hu Y**, Ma D, Shan N, Zhu Y, Liu X, Zhang L, Yu S, Ji C, Hou M: Increased number of Tc17 and correlation with Th17 cells in patients with immune thrombocytopenia.

*PLoS One* **2011**; 6(10)

**Joutsu L**, Kekomäki R: Comparison of the direct platelet immunofluorescence test (direct PIFT) with a modified direct monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (direct MAIPA) in detection of platelet-associated IgG.

*British Journal of Haematology* **1997**; 96(1): 204-209

**Jurczak W**, Chojnowski K, Mayer J, Krawczyk K, Jamieson B, Tian W, Allen L: Phase 3 randomised study of avatrombopag, a novel thrombopoietin receptor agonist for the treatment of chronic immune thrombocytopenia.

*British Journal of Haematology* **2018**; 183(3): 479-490

**Kado R**, Sanders G, McCune WJ: Suppression of normal immune responses after treatment with rituximab.

*Current Opinion in Rheumatology* **2016**; 28(3): 251-8

**Kashiwagi H**, Tomiyama Y: Pathophysiology and management of primary immune thrombocytopenia.

*International Journal of Hematology* **2013**; 98(1): 24-33

**Khellaf M**, Michel M, Schaeffer A, Bierling P, Godeau B: Assessment of a therapeutic strategy for adults with severe autoimmune thrombocytopenic purpura based on a bleeding score rather than platelet count.

*Haematologica* **2005**; 90(6): 829-832

**Kiefel V**, Freitag E, Kroll H, Santoso S, Mueller-Eckhardt C: Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and Ib/IX in patients with thrombocytopenia.

*Annals of Hematology* **1996**; 72(4): 280-285

**Kiefel V**, Santoso S, Weisheit M, Müller-Eckhardt C: Monoclonal antibody--specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies.

*Blood* **1987**; 70(6): 1722-1726

**Kiefel V**: The MAIPA assay and its applications in immunohaematology.

*Transfusion Medicine* **1992**; 2(3): 181-188

**Killie M**, Salma W, Bertelsen E, Skogen B, Husebekk A: Quantitative MAIPA: Comparison of different MAIPA protocols.

*Transfusion and Apheresis Science* **2010**; 43(2): 149-154

**Kitchens C**, Pendergast J: Human thrombocytopenia is associated with structural abnormalities of the endothelium that are ameliorated by glucocorticosteroid administration.

*Blood* **1986**; 67(1): 203-206

**Kovaleva L**, Apte S, Damodar S, Ramanan V, Loriya S, Navarro-Puerto J, Khojasteh A und Group, investigators of the Flebogamma DIF in ITP Study: Safety and efficacy of a 10% intravenous immunoglobulin preparation in patients with immune thrombocytopenic purpura: results of two international, multicenter studies.

*Immunotherapy* **2016**; 8(12): 1371-1381

**Kuwana M**, Kaburaki J, Ikeda Y: Autoreactive T cells to platelet GPIIb-IIIa in immune thrombocytopenic purpura. Role in production of anti-platelet autoantibody.

*Journal of Clinical Investigation* **1998**; 102(7): 1393-1402

**Kuwana M**, Okazaki Y, Kaburaki J, Kawakami Y, Ikeda Y: Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura.

*Journal of Immunology* **2002**; 168(7): 3675-3682

**Kuwana M**, Ito T, Kowata S, Hatta Y, Fujimaki K, Naito K, Kurahashi S, Kagoo T, Tanimoto K, Saotome S, Tomiyama Y; R788-1301 Investigators: Fostamatinib for the treatment of Japanese patients with primary immune thrombocytopenia: A phase 3, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study.

*British Journal of Haematology* **2023**; 200(6): 802-811

**Lardinois B**, Favresse J, Chatelain B, Lippi G, Mullier F: Pseudothrombocytopenia-A Review on Causes, Occurrence and Clinical Implications.

*Journal of Clinical Medicine* **2021**; 10(4): 594

**Lee S**, Kim J, Kwon T: Life-threatening outcomes after dental implantation in patient with idiopathic thrombocytopenic purpura: a case report and review of literature.

*Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery* **2018**; 40(39)

**Lucchini E**, Palandri F, Volpetti S, Vianelli N, Auteri G, Rossi E, Patriarca A, Carli G, Barcellini W, Celli M, Consoli U, Valeri F, Santoro C, Crea E, Vignetti M, Paoloni F, Gigliotti C, Boggio E, Dianzanil U: Eltrombopag second-line therapy in adult patients with primary immune thrombocytopenia in an attempt to achieve sustained remission off-treatment: results of a phase II, multicentre, prospective study: *British Journal of Haematology*.

*British Journal of Haematology* **2021**; 193(2): 386-396

**Mann M**, Grimes E: Treating Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura.

*Dimensions of Dental Hygiene* **2011**; 9(8): 20-23

**Matzdorff A**, Meyer O, Ostermann H, Kiefel V, Eberl W, Kühne T, Pabinger I, Rummel M: Immunthrombozytopenie - aktuelle Diagnostik und Therapie: Empfehlungen einer gemeinsamen Arbeitsgruppe der DGHO, ÖGHO, SGH, GPOH und DGTI.

*Oncology Research and Treatment* **2018**; 41(2): 5-36

**Matzdorff A**, Holzhauer S, Kühne T, Meyer O, Ostermann H, Pabinger-Fasching I, Rummel M, Sachs U, Wörmann B: Immunthrombozytopenie (ITP).

*Onkopedia* **2021**; Verfügbar unter: [www.onkopedia.com](http://www.onkopedia.com); Zugriff am 05.09.2023

**Matzdorff A**, Wörmann B: *Diagnosis and therapy of immune thrombocytopenia*.

*Deutsche Medizinische Wochenschrift* **2018**; 143(15): 1076-1081

**Matzdorff A**, Alesci SR, Gebhart J, Holzhauer S, Hütter-Krönke ML, Kühne T, Meyer O, Ostermann H, Pabinger I, Rummel M, Sachs UJ, Stauch T, Trautmann-Grill K, Wörmann B: Expertenreport Immunthrombozytopenie - Aktuelle Diagnostik und Therapie.

*Oncology Research and Treatment* **2023**; 46(1): 7-53

**McMillan R**, Bussel J, George J, Lalla D, Nichol J: Self-reported health-related quality of life in adults with chronic immune thrombocytopenic purpura.

*American Journal of Hematology* **2008**; 83(2): 150-154

**McMillan R**, Wang L, Tani P: Prospective evaluation of the immunobead assay for the diagnosis of adult chronic immune thrombocytopenic purpura (ITP).

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2003**; 1(3): 485-491

**McMillan R**, Wang L, Tomer A, Nichol J, Pistillo J: Suppression of in vitro megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult patients with chronic ITP.

*Blood* **2004**; 103(4): 1364-1369

**McMillan**: The pathogenesis of chronic immune thrombocytopenic purpura.

*Seminars in Hematology* **2007**; 44(5): 3-11

**Miyazaki H**, Kato T: Thrombopoietin: biology and clinical potentials.

*International Journal of Hematology* **1999**; 70(4): 216-225

**Moulis G**, Germain J, Comont T, Brun N, Dingremont C, Castel B, Arista S, Sailler L, Lapeyre-Mestre M, Beyne-Rauzy O, Godeau B, Adoue D, CARMEN Investigators Group: Newly diagnosed immune thrombocytopenia adults; clinical epidemiology, exposure to treatments and evolution. Results of the CARMEN multicenter prospective cohort.

*American Journal of Hematology* **2017**; 92: 493-500

**Myers B**: Diagnosis and management of maternal thrombocytopenia in pregnancy.

*British Journal of Haematology* **2012**; 158: 3-15

**Neylon A**, Saunders P, Howard M, Proctor S, Taylor P: Clinically significant newly presenting autoimmune thrombocytopenic purpura in adults: a prospective study of a population-based cohort of 245 patients.

*British Journal of Haematology* **2003**; 122: 966-974

**Nguyen X**, Dugrillon A, Beck C, Kerowgan M, Klüter H: A novel method for simultaneous analysis of specific platelet antibodies: SASPA.

*British Journal of Haematology* **2004**; 127(5): 552-560

**Nguyen X**, Goebel M, Schober M, Klüter H, Panzer S: The detection of platelet antibodies by simultaneous analysis of specific platelet antibodies and the monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens: an interlaboratory comparison.

*Transfusion* **2010**; 50(7): 1429-1434

**Nishimoto T**, Satoh T, Simpson E, Ni H, Kuwana M: Predominant autoantibody response to GPIb/IX in a regulatory T-cell-deficient mouse model for immune thrombocytopenia.

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2013**; 11(2): 369-372

**Nishimoto T**, Satoh T, Takeuchi T, Ikeda Y, Kuwana M: Critical role of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in preventing murine autoantibody-mediated thrombocytopenia.

*Experimental Hematology* **2012**; 40(4): 279-289

**Nørgaard M**, Jensen A, Engebjerg M, Farkas D, Thomsen R, Cha S, Zhao S, Sørensen H: Long-term clinical outcomes of patients with primary chronic immune thrombocytopenia: a Danish population-based cohort study.

*Blood* **2011**; 117(13): 3514-3520

**O'Leary S**, Glanz J, McClure D, Akhtar A, Daley M, Nakasato C, Baxter R, Davis R, Izurieta H, Lieu T, Ball R: The risk of immune thrombocytopenic purpura after vaccination in children and adolescents.

*Pediatrics* **2012**; 129(2): 248-255

**Passucci M**, Laganà A, Donzelli L, Masucci C, Genoese A, Chistolini A, Baldacci E, Santoro C: Fostamatinib combined with TPO-RAs or steroids as a bridge to monotherapy or as time-limited continuous treatment in relapsed chronic ITP: A single-centre case series.

*British Journal of Haematology* **2024**

**Patel VL**, Mahévas M, Lee SY, Stasi R, Cunningham-Rundles S, Godeau B, Kanter J, Neufeld E, Taube T, Ramenghi U, Shenoy S, Ward MJ, Mihatov N, Patel VL, Bierling P, Lesser M, Cooper N, Bussel JB: Outcomes 5 years after response to rituximab therapy in children and adults with immune thrombocytopenia.

*Blood* **2012**; 119(25): 5989-95

**Piel-Julian M**, Mahévas M, Germain J, Languille L, Comont T, Lapeyre-Mestre M, Payrastre B, Beyne-Rauzy O, Michel M, Godeau B, Adoue D, Moulis G: CARMEN investigators group. Risk factors for bleeding, including platelet count threshold, in newly diagnosed immune thrombocytopenia adults.

*Journal of Thrombosis and Haemostasis* **2018**; 16(9): 1830-1842

**Pizzuto J**, Ambriz R: Therapeutic experience on 934 adults with idiopathic thrombocytopenic purpura: Multicentric Trial of the Cooperative Latin American group on Hemostasis and Thrombosis.

*Blood* **1984**; 64(6): 1179-1183

**Pizzuto J**, Ambriz R: Therapeutic experience on 934 adults with idiopathic thrombocytopenic purpura: Multicentric Trial of the Cooperative Latin American group on Hemostasis and Thrombosis.

*Blood* **1984**; 64(6): 1179-1183

**Porcelijn L**, Huiskes E, Comijs-van Osselen I, Chhatta A, Rathore V, Meyers M, de Haas M: A new bead-based human platelet antigen antibodies detection assay versus the monoclonal antibody immobilization of platelet antigens assay.

*Transfusion* **2013**; 54(6): 1486-1492

**Porcelijn L**, Huiskes E, Oldert G, Schipperus M, Zwaginga J, de Haas M: Detection of platelet autoantibodies to identify immune thrombocytopenia: state of the art.

*British Journal of Haematology* **2018**; 182(3): 423-426

**Porcelijn L**, Huiskes E, de Haas M: Progress and development of platelet antibody detection.

*Transfusion and Apheresis Science* **2020**; 59(1)

**Provan D**, Arnold D, Bussel J, Chong B, Cooper N, Gernsheimer T, Ghanima W, Godeau B, González-López T, Grainger J, Hou M, Kruse C, McDonald V, Michel M, Newland A, Pavord S, Rodeghiero F, Scully M, Tomiyama Y, Wong RS, Zaja F, Kuter D: Updated international consensus report on the investigation and management of primary immune thrombocytopenia.

*Blood* **2019**; 3(22): 3780-3817

**Rockenbauer L**, Eichelberger B, Panzer S: Comparison of the bead-based simultaneous analysis of specific platelet antibodies assay (SASPA) and Pak Lx Luminex technology with the monoclonal antibody immobilization of platelet antigens assay (MAIPA) to detect platelet alloantibodies.

*Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* **2015**; 53(11): 1779-1783

**Rodeghiero F**, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, Bussel JB, Cines DB, Chong BH, Cooper N, Godeau B, Lechner K, Mazzucconi MG, McMillan R, Sanz MA, Imbach P, Blanchette V, Kühne T, Ruggeri M, George JN: Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group.

*Blood* **2009**; 113: 2386-2393

**Rostetter C**, Finkenstädt T, Rücker M, Lübbers H: Therapeutic options to manage bleeding in a dentist's office.

*Swiss Dental Journal* **2018**; 128: 498-499

**Sailer T**, Lechner K, Panzer S, Kyrle P, Pabinger I: The course of severe autoimmune thrombocytopenia in patients not undergoing splenectomy.

*Haematologica* **2006**; 91(8): 1041-1045

**Sakaguchi S**: Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self.

*Nature Immunology* **2005**; 6(4): 345-352

**Sakakura M**, Wada H, Tawara I, Nobori T, Sugiyama T, Sagawa N, Shiku H: Reduced Cd4+Cd25+ T cells in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura.

*Thrombosis Research* **2007**; 120(2): 187-193

**Salles G**, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, Wenger M, Maloney D: Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience.

*Advances in Therapy* **2017**; 34(10): 2232-2273

**Sangwan A**, Tewari S, Narula S, Sharma R, Sangwan P: Significance of periodontal health in primary immune thrombocytopenia- a case report and review of literature.

*Journal of Dentistry* **2013**; 10(2): 197-202

**Schoonen W**, Kucera G, Coalson J, Li L, Rutstein M, Mowat F, Fryzek J, Kaye J: Epidemiology of immune thrombocytopenic purpura in the General Practice Research Database.

*British Journal of Haematology* **2009**; 145(2): 235-244

**Schumacher B**: Kortison-Dauertherapie fördert Infektionen — auch in niedriger Dosis.

*Orthopädie & Rheuma* **2019**; 22

**Semple J**, Italiano J, Freedman J: Platelets and the immune continuum.

*Nature Reviews Immunology* **2011**; 11(4): 264-274

**Stasi R**, Newland A: ITP: a historical perspective.

*British Journal of Haematology* **2011**; 153(4): 437-450

**Stoy J**, Bein G, Sachs U, Müller-Ladner U: Glykoprotein V-spezifische Thrombozytenantikörper bei Patienten mit Immunthrombozytopenie (ITP).

**2012**; S. 57

**Sun L**, Meckes DG Jr: Methodological Approaches to Study Extracellular Vesicle miRNAs in Epstein-Barr Virus-Associated Cancers.

*International Journal of Molecular Sciences* **2018**; 19(9): 2810

**Tarantino M**, Fogarty P, Shah P, Brainsky A: Dental procedures in 24 patients with chronic immune thrombocytopenia in prospective clinical studies of eltrombopag.

*Platelets* **2015**; 26(1): 93-96

**van Dijk W**, van Es R, Correa M, Schutgens R, van Galen K: Dentoalveolar Procedures in Immune Thrombocytopenia; Systematic Review and an Institutional Guideline.

*TH Open* **2021**; 5(4): 489-502

**Van Loghem J**, Dorfmeijer H, van Hart M, Schreuder F: Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zw).

*Vox Sanguinis* **1959**; 4(2): 161-169

**Vasconcelos R**, Vasconcelos G, do Nascimento M, de Andrade Amorim V: Childhood Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: Oral Manifestations and Dental Care.

*International Journal of Oral and Dental Health* **2018**; 4(2)

**Vianelli N**, Palandri F, Poverelli N, Stasi R, Joelsson J, Johansson E, Ruggeri M, Zaja F, Cantoni S, Catucci A, Candoni A, Morra E, Björkholm M, Baccharani M, Rodeghiero F: Splenectomy as a curative treatment for immune thrombocytopenia: a retrospective analysis of 233 patients with a minimum follow up of 10 years.

*Haematologica* **2013**; 98(6): 875-880

**Vogelaar SA**, Posthuma D, Boomsma D, Kluft C: Blood sample stability at room temperature for counting red and white blood cells and platelets.

*Vascular Pharmacology* **2002**; 39(3): 123-5

**Wisgrill L**, Lamm C, Hartmann J, Preißing F, Dragosits K, Bee A, Hell L, Thaler J, Ay C, Pabinger I, Berger A, Spittler A: Peripheral blood microvesicles secretion is influenced by storage time, temperature, and anticoagulants.

*Cytometry Part A* **2016**; 89(7): 663-72

**Yu J**, Heck S, Patel V, Levan J, Yu Y, Bussel J, Yazdanbakhsh K: Defective circulating CD25 regulatory T cells in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura.

*Blood*. **2008**; 112(4): 1325-1328

**Zeller B**, Helgestad J, Hellebostad M, Kolmannskog S, Nystad T, Stensvold K, Wesenberg F: Immune thrombocytopenic purpura in childhood in Norway: a prospective, population-based registration.

*Pediatric Hematology and Oncology* **2000**; 17(7): 551-558

**Zhai J**, Ding M, Yang T, Zuo B, Weng Z, Zhao Y, He J, Wu Q, Ruan C, He Y: Flow cytometric immunobead assay for quantitative detection of platelet autoantibodies in immune thrombocytopenia patients.

*Journal of Translational Medicine* **2017**; 15(1): 214