Fetale und **N**eonatale **A**llo**I**mmun **T**hrombozytopenie

-

Die Bedeutung der plazentaren Entzündung für den Schweregrad der Erkrankung

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

vorgelegt von Böhm, David Christopher
aus Esslingen am Neckar

Gießen 2026

Aus dem Fachbereich Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

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

1. Gutachter: Prof. Dr. Gregor Bein

2. Gutachter: Prof. Dr. Roland Axt-Fliedner

Tag der Disputation: 18.08.2026

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1

1.1 Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie 1

1.1.1 Epidemiologie 1

1.1.2 Inzidenz 1

1.1.3 Pathogenese 2

1.1.4 Klinik 6

1.1.5 Therapie 8

1.2 Thrombozyten 10

1.2.1 Thrombozytäre Glykoproteine 11

1.2.2 Humanes-Plättchenantigen (HPA) 14

1.3 Inflammationsmarker 17

1.3.1 C-reaktives Protein (CRP) 17

1.3.2 Procalcitonin (PCT) 19

1.3.3 Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) 21

1.3.4 Cluster-of-differention-14 25

1.4 Zielsetzung 29

2. Material und Methoden 30

2.1 Patientenseren 30

2.2 Luminex Assay 31

2.3 Testdurchführung 32

2.1.1. Material 32

2.1.1 Vorbereitung 33

2.1.2 Testverfahren 35

2.4 Statistik 36

3. Ergebnisse 37

3.1 Basischarakteristika des Patientenkollektivs 37

3.2 Korrelation zwischen der Erkrankungsausprägung und den gemessenen Inflammationsmarkern....40

3.3 Korrelation zwischen dem Auftreten einer intrakraniellen Hämorrhagie und den gemessenen Inflammationsmarkern....42

3.4 Korrelation zwischen der Erkrankungsausprägung/ einer intrakraniellen Hämorrhagie und den kindlichen Thrombozyten (/µl)....44

3.5 Einfluss der Inflammationsmarker auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung....45

3.5.1 Einfluss der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)....45

3.5.2 Einfluss der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)....46

3.5.3 Einfluss der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)....47

3.5.4 Einfluss der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)....48

4. Diskussion....49

4.1 Beeinflusst eine systemische Entzündung die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie?....49

4.2 Die systemische Entzündung als Teil des Pathomechanismus einer intrakraniellen Blutung?....51

4.3 Zusammenhang zwischen Inflammationsmarkern und der postnatalen Thrombozytenzahl....53

4.4 Die Bedeutung der plazentaren Entzündung für den Schweregrad FNAIT....55

5. Zusammenfassung....58

6. Summary....59

7. Abkürzungsverzeichnis....61

8. Abbildungsverzeichnis....63

9. Tabellenverzeichnis....64

10. Literaturverzeichnis 65
10.1 Literatur 65
10.2 Erlaubnis zur Nutzung von Abbildungen anderer Arbeiten 89
11. Publikationsverzeichnis 90
12. Ehrenwörtliche Erklärung 91
13. Danksagung 92

1. Einleitung

1.1 Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie

Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie (FNAIT) ist eine seltene, unbekannte, aber in ihrer Ausprägung schwere Erkrankung mit schwerwiegenden Folgen für die betroffenen Kindern und werdenden Eltern (Vos et al. 2020). Während einer Schwangerschaft können durch die Mutter Antikörper gegen Antigene auf fetalen Blutplättchen (Thrombozyten) gebildet werden, die der Fetus vom Vater geerbt hat. Dabei zerstören die mütterlichen Antikörper fetale Thrombozyten, was teilweise zu einem deutlichen Thrombozyten-Abfall und somit zur Thrombozytopenie führt (Sachs et al. 2012). Diese birgt das Risiko von Blutungsereignissen, die in ihrer Ausprägung von einer asymptomatischen Thrombozytopenie über einfache Hauteinblutungen bis hin zu einer gefürchteten intrakraniellen Blutung (Hämorrhagie) mit lebenslangen neurologischen Defiziten oder bis zum Versterben führen können (Mueller-Eckhardt et al. 1989). Aufgrund der geringen Inzidenz und Diversität der Symptome stellt eine präzise Diagnosestellung eine große Herausforderung für die behandelnden Ärzte dar (Kamphuis et al. 2014). Darüber hinaus bestehen aufgrund der geringen Fallzahlen in den bislang durchgeführten Therapiestudien nur begrenzte Möglichkeiten einer evidenzbasierten Empfehlung zum optimalen pränatalen Vorgehen (Sachs et al. 2012).

1.1.1 Epidemiologie

Die häufigste Ursache für die Entstehung einer FNAIT in der kaukasischen Population ist die Immunisierung gegen das HPA-1a-Antigen (ca. 80 %). Mit ca. 10 % stellen Antikörper gegen das HPA-5b-Antigen die zweit häufigste Ursache dar. Gefolgt von Antikörpern gegen HPA-1b (4 %) und HPA-3a (2 %) (Mueller-Eckhardt et al. 1989; Davoren et al. 2004; Ghevaert et al. 2007b). Dabei präsentieren sich schwerwiegende Komplikationen am häufigsten bei Antikörpern gegen das HPA-1a-Antigen (Tiller et al. 2013). In der asiatischen Population hingegen zeigt sich eine überwiegende Immunisierung gegen das HPA-4b und HPA-5b-Antigen, wobei die Komplikation einer intrakraniellen Hämorrhagie dort deutlich geringer ist (Ohto et al. 2004).

1.1.2 Inzidenz

Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie ist eine der häufigsten Ursachen einer schweren kindlichen Thrombozytopenie (Thrombozytenzahl < 50.000 /µl) mit einer Erkrankungshäufigkeit von ca. 1:1 000 bis 1:2 000. Im Gegensatz dazu ist die Rate der

klinisch diagnostizierten FNAIT-Fälle mit 12,4 von 100 000 Schwangerschaften (1:8 000) geringer als in Screening-Studien zu erwarten wäre (Dreyfus et al. 1997; Kamphuis et al. 2010; Knight et al. 2011; Winkelhorst et al. 2020). Im Rahmen großer prospektiver Studien konnten bei 2 % der schwangeren Frauen das Merkmal HPA-1a nicht nachgewiesen werden. Davon wurden bei ca. 10 % der Schwangeren (1:500-1:400) Antikörper gegen HPA-1a gefunden. Eine schwere FNAIT (Thrombozyten < 50 000 /µl) entwickelte sich dabei bei jeder dritten immunisierten Frau (1:1300 – 1:1 700). Eine schwerwiegende Komplikation (intrakranielle Hämorrhagie oder Tod) zeigte sich bei ca. 10-30 % der schweren FNAIT-Fälle (1:10 000) (Knight et al. 2011; Sachs et al. 2012; Winkelhorst et al. 2020).

1.1.3 Pathogenese

Zur Entstehung einer FNAIT sind mehrere Schritte erforderlich. Zunächst muss eine Inkompatibilität zwischen den mütterlichen und den fetalen blutplättchenspezifischen Antigenen (Humanes-Plättchen-Antigen (HPA)) vorliegen, welche sich vorwiegend auf thrombozytären Glykoproteinen (GP) befinden (Santoso und Kiefel 1998). Es folgt eine mütterliche Immunisierung gegen die als fremd erkannten kindlichen Humanen-Plättchen-Antigene (Alloimmunisierung). Dies führt nun zu einer Immunantwort mit Bildung von IgG-spezifischen Antikörpern, die sich gegen kindliche Thrombozyten richten, welche diaplazentar in den Fetus übertreten und intrauterin oder postnatal den Abbau der Thrombozyten initiieren (Bussel und Primiani 2008; Kiefel 2010).

Im exemplarischen Fall einer Immunisierung gegen HPA-1a (exprimiert auf GPIIIa) ist die Schwangere homozygot für das seltenere Allel (HPA-1bb). Sie immunisiert somit gegen das immer heterozygot vorliegende fetale HPA-1a-Antigen (HPA-1ab). Väterlicherseits kann eine homozygote (HPA-1aa) oder heterozygote (HPA-1ab) Allelkombination vorliegen. (Sachs et al. 2012) Die Ursache hierfür ist eine Punktmutation, die zu einem einzelnen Aminosäureaustausch ($Leucin^{33} \rightarrow Prolin^{33}$) auf dem thrombozytären Glykoprotein GP-IIIa führt (biallelischer Polymorphismus). (Newman et al. 1989) Dabei werden die wichtigsten Blutgruppenmerkmale auf dem Fibrinogenrezeptor (GPIIb/ IIIa), dem Kollagenrezeptor (Ia/IIa), dem von Willebrand-Faktor-Rezeptor (GPIb/IX) sowie CD109 exprimiert (Santoso et al. 1993; Stockelberg et al. 1996; Hou et al. 1996).

Der Mechanismus der fetalen Antigenpräsentation und die mütterliche Antikörperentstehung sind bis heute nicht ausreichend verstanden. Derzeitige Theorien gehen von einer ähnlichen Pathogenese wie beim Morbus haemolyticus neonatorum aus. (Vadasz et al. 2015). Bei diesem kommt es aufgrund einer Rhesus-Inkompatibilität zur IgG-Antikörper-Entstehung gegen fetale rote Blutkörperchen (Erythrozyten). Die Folgen können von einer Anämie bis hin zum Hydrops fetalis (generalisierte Flüssigkeitsansammlung im ungeborenen Kind) reichen. Die Immunisierung erfolgt während der Geburt des ersten Kindes, bei der große Mengen fetaler Erythrozyten in den Kreislauf der Mutter gelangen. Bei einer erneuten Schwangerschaft gelangen die gebildeten Antikörper diaplazentar in den kindlichen Kreislauf und initiieren den Abbau der Erythrozyten (Urbaniak und Greiss 2000). Bei der FNAIT hingegen kommt es in 25 % der Fälle zu einer Immunisierung und Antikörperbildung im Rahmen der ersten Schwangerschaft (Williamson et al. 1998). Dieser Umstand könnte einer verringerten Größe und somit größeren Mobilität der Thrombozyten geschuldet sein, die dadurch vermehrt in den mütterlichen Kreislauf gelangen (Vadasz et al. 2015).

Thrombozytäre HPA-1a-Merkmale werden ab der 16. Schwangerschaftswoche auf den fetalen Plättchen exprimiert (Gruel et al. 1986). Es ist aber nicht klar, ob die mütterliche Immunisierung tatsächlich diesem Mechanismus unterliegt. Weitere Studien haben gezeigt, dass GPIIIa als Träger des Merkmals HPA-1a auf den Mikrovilli der Synziothrophoblasten schon im 1. Trimenon (10. SSW) exprimiert wird. Durch Membranbruchstücke können somit HPA-1a-Merkmale dem mütterlichen Immunsystem präsentiert werden. Dies würde eine von den Thrombozyten unabhängige und damit frühere mütterliche Immunisierung bedeuten (Kumpel et al. 2008; Snir et al. 2010; Kumpel und Manoussaka 2012).

Antigentragende Partikel (Thrombozyten oder Membranbruchstücke) gelangen über den mütterlichen Kreislauf in mütterliche Lymphknoten und Milz. Dort werden sie von antigenpräsentierenden Zellen (APC) wie Makrophagen und dendritische Zellen phagozytiert und die Antigene werden in kleine Peptide prozessiert. Diese werden über HLA-Klasse-II-Moleküle auf der Zellmembran CD4-positiven-T-Helferzellen präsentiert. Erst durch diese HLA-Klasse-II-Präsentation sind CD4-positive-T-Helferzellen in der Lage, B-Lymphozyten zu stimulieren, welche sich in antikörpersezernierenden Plasmazellen differenzieren und antigen-spezifische IgG-Antikörper produzieren (Anani Sarab et al. 2009; Kumpel und Manoussaka 2012;

Kjeldsen-Kragh et al. 2007). Nur ca. 10 % der HPA-1a-negativen (HPA-1bb) schwangeren Frauen immunisieren sich tatsächlich gegen das Merkmal HPA-1a. Hiervon tragen ca. 95 % das Risikoallel DRB3*01:01, das einen bestimmten HLA-Klasse-II-Halotyp codiert (Williamson et al. 1998; Kjeldsen-Kragh et al. 2007). Dieser bindet ein immunogenes Peptid aus GPIIIa besonders effektiv und präsentiert es CD4-positiven T-Helferzellen (Anani Sarab et al. 2009). Dabei zeigt sich nicht nur das HLA-DRB3*01:01-positive Frauen sich häufiger gegen HPA-1a immunisieren, sondern auch, dass diese signifikant höhere HPA-1a-Antikörper-Konzentrationen aufweisen und die betroffenen Kinder signifikant häufiger schwere Thrombozytopenien ((Thrombozytenzahl < 50.000 /µl) entwickeln (Kjeldsen-Kragh et al. 2020). Interessanterweise zeigte sich aber keine Assoziation zwischen dem HLA-DRB3*01:01-Status und einer FNAIT-induzierten intrakraniellen Hämorrhagie (Wienzek-Lischka et al. 2017; Kjeldsen-Kragh et al. 2020).

Der mütterliche-fetale Stoffaustausch findet in der Plazenta über die Zottenhaut (Chorion) statt. Durch Zottenbildung im Chorion erfolgt eine Oberflächenvergrößerung zur Verbesserung des Stoffaustausches (Teasdale und Jean-Jacques 1985). Die Barriere zwischen mütterlichem Blut und kindlichem Gewebe wird durch Synzytiotrophoblasten gebildet (Kumpel und Manoussaka 2012). Ab der 14. Schwangerschaftswoche sind maternale IgG-Antikörper in der Lage, diese Barriere zu durchdringen und in den fetalen Kreislauf zu gelangen (Boehlen et al. 1998). Hierdurch wird dem Fetus eine passive Immunität gewährt, die das neugeborene Kind vor Infektionen schützen soll, bis das kindliche Immunsystem ausgereift ist. Der IgG-Immunglobulin-Transport erfolgt aktiv über den Synziotrophoblasten. Dieser exprimiert FcRn-Rezeptoren, welche die IgG-Antikörper binden und mittels Transzytose in den fetalen Kreislauf transportieren (Simister et al. 1996; Brambell 1966; Roopenian und Akilesh 2007). Dahingehend konnte anhand eines Mausmodels gezeigt werden, dass ohne Expression von FcRn-Rezeptoren kein Antikörper-Transport möglich war und der Erkrankungsausbruch einer FNAIT verhindert werden konnte (Chen et al. 2010).

Die in den fetalen Kreislauf gelangten mütterlichen IgG-Alloantikörper binden mit ihrer F_{ab}-Region an Beta-3-Integrin am GPIIIa-Rezeptor der fetalen Thrombozyten. In der Milz werden die opsonierten Thrombozyten durch eine Interkation zwischen dem Fc-Rezeptor der Makrophagen und der Fc-Region der Antikörper von Makrophagen erkannt und eliminiert. Es kommt zur kindlichen Thrombozytopenie (HARRINGTON et al. 1953; McMillan et al. 1974; van Gils et al. 2009; Li et al. 2012). Durch den beschleunigten

Abbau, sowie in seltenen Fällen durch eine Inhibition der Plättchenaggregation, kommt es zur erhöhten Blutungsneigung (Kroll et al. 2005; McMillan et al. 1974).

Nur ca. 10 % der Kinder mit einer FNAIT in Kombination mit einer ausgeprägten Thrombozytopenie entwickeln eine intrakranielle Blutung. Daher ist anzunehmen, dass der vollständige Pathomechanismus nicht vollständig verstanden wurde. Eine mögliche Erklärung ist eine HPA-1a-antikörpervermittelte Beeinträchtigung der Angiogenese (Entstehung neuer Blutgefäße) (Yougbaré et al. 2015). Beta-Integrin-3 als Angriffspunkt von HPA-1a-Antikörpern wird nicht nur von Thrombozyten (αIIbβ3), sondern auch von vaskulären Endothelzellen während der Angiogenese exprimiert (αVβ3) (Leeksma et al. 1987; van Gils et al. 2009). Durch Antikörperbindung an β-3-Integrin konnte eine Ausbreitung von proliferierenden Endothelzellen behindert werden (van Gils et al. 2009). Weiterführend konnte in einem Mausmodell mit β3-negativen/ positiven Feten eine antikörperabhängige Inhibierung der Angiogenese gezeigt werden, was zum signifikanten Auftreten von intrakraniellen Blutungen führte. Dabei konnte keine zytotoxische Wirkung auf die Endothelzellen beobachtet werden, sondern es zeigte sich eine verringerte Dichte und Apoptose von proliferierenden Endothelzellen sowie eine Abnahme von angiogenetischen Faktoren (VEGF, FGF-acid, MMP-8, Endothelin-1) und des Serin/Threonin-Kinase-Signalweg (ATK). Am ehesten ist von einem synergetischen Effekt zwischen einer beeinträchtigten Angiogenese (Gefäßschäden) und einer Thrombozytopenie (unzureichende Gerinnung) auszugehen, die als Ursache von schweren Blutungsereignissen anzusehen ist (Yougbaré et al. 2015).

Auch fetale Trophoblasten exprimieren αVβ3-Integrin während der Plazentaentstehung (Kabir-Salmani et al. 2003). Trophoblasten spielen eine zentrale Rolle bei der Plazentaeinnistung und in der Entstehung des fetal-maternalen Blutkreislaufs. Eine Beeinträchtigung der Trophoblasteninvasion konnte bei verschiedenen Schwangerschaftskomplikationen (bspw. bei Fehlgeburten, Präeklampsie, Intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR)) beobachtet werden. Es stellt sich daher auch die Vermutung, dass HPA-1a-Antikörper die plazentare Angiogenese behindern und somit zur Plazentainsuffizienz führen. Dabei konnte bei unbehandelten FNAIT-Fällen eine chronische Villitis an der Plazenta nachgewiesen werden. Diese würde zu intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) bis hin zu Fehlgeburten führen, was sich in Studiendaten auch widerspiegelt (Tiller et al. 2012; Li et al. 2011; Sullivan et al. 2017; Ni 2018; Althaus et al. 2005).

1.1.4 Klinik

Die Verdachtsdiagnose einer FNAIT wird typischerweise gestellt, wenn Neugeborene Hauteinblutungen (Petechien) und/oder isoliert Thrombozytopenien aufweisen, die sich innerhalb weniger Stunden nach Geburt verstärken können. (Bussel und Primiani 2008; Tiller et al. 2017). In sehr seltenen Fällen wird diese auch durch eine pränatale intrakranielle Blutung auffällig (Sachs et al. 2012). Eine Thrombozytopenie ist definiert bei einer Thrombozytenzahl < 150 000 /µl. Zusätzlich erfolgt eine Klassifikation in mild (<100 000 /µl), moderat (50 000-99 999 /µl) und schwer (< 50 000/µl), wobei kein Unterschied zwischen einem kindlichen und adulten Grenzwert gezogen wird (Burrows und Kelton 1993; Wiedmeier et al. 2009; Sola-Visner und Bercovitz 2016). Dabei zeigen 0,9 % der Neugeboren eine Thrombozytopenie und 0,14-0,24 % eine schwere Thrombozytopenie. 30 % dieser schweren Thrombozytopenien sind dabei immun-vermittelt (meistens alloimmun) (Wiedmeier et al. 2009; Kamphuis et al. 2014).

Der Großteil der symptomatischen FNAIT-Fälle (ca. 90 %) zeigt eine schwere Thrombozytopnie. In verschiedenen Studien wurden dabei Symptome in absteigender Häufigkeit beobachtet: Petechien (80-90 %), Hämatome (66 %), gastrointestinale Blutungen vorwiegende Meläna (15-28 %), Hämoptysen (8 %), retinale Blutungen (7 %), Hämaturie (3 %). Intrakranielle Blutungen zeigten sich in 11-21 % der Fälle (Mueller-Eckhardt et al. 1989; Bonacossa und Jocelyn 1996; Uhrynowska et al. 1997; Bussel et al. 2005; Bussel und Primiani 2008). Zudem zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem Geburtsgewicht FNAIT-betroffener (abhängig von der HPA-1a-Antikörperkonzentration) und gesunder männlicher Neugeborener (im Mittel -530 g). Das klinische Bild erweitert sich dadurch um eine intrauterine Wachstumsretardierung (IUGR) (Tiller et al. 2012).

Intrakranielle Hämorrhagie

Etwa 10-30 % der an FNAIT erkrankten Kinder erleiden eine intrakranielle Hämorrhagie (Blutung), was einer Ausprägungshäufigkeit von 1:10 000 Neugeborener bedeutet. Dabei weisen 90 % HPA-1a-Antikörper auf (Tiller et al. 2017). Im Umkehrschluss entstehen bei ca. 26 % der HPA-1a-Fälle eine intrakranielle Hämorrhagie (Spencer und Burrows 2001). Ca. 80 % der Blutungen treten intrauterin auf, wobei der Großteil der Blutungen (54 %) vor dem dritten Trimester (28. SSW) und 67 % vor der 34. Schwangerschaftswoche entstehen. Der Großteil der Betroffenen ist männlich und erstgeboren (Spencer und Burrows 2001; Delbos et al. 2016; Tiller et al. 2013). Die

Blutungen zeigen sich vorwiegend intraparenchymal, meist im Temporallappen. Im Verlauf kommt es typischerweise zu großen, hemisphärischen, porenzephalitischen Zysten und Ventrikulomegalie (Dale und Coleman 2002). Ein Drittel der Kinder stirbt innerhalb der ersten vier Tage nach Entbindung. Über die Hälfte der überlebenden Kinder zeigt schwere neurologische Defizite und nur 12-20 % überleben ohne Folgeschäden (Tiller et al. 2013; Winkelhorst et al. 2019; Ghevaert et al. 2007b; Tiller et al. 2017). Es konnte keine Assoziation klinischer Kriterien wie dem Geburtsmodus, dem Geburtsgewicht und anderen Blutungskomplikationen dargestellt werden (Bussel et al. 2005). Eine erniedrigte Thromboyztenzahl (20 000-34 000 /µl) korreliert hingegen mit dem Auftreten einer intrakraniellen Blutung, wobei zahlreiche Kinder mit niedrigen Thrombozytenzahlen keine intrakranielle Blutung entwickeln. (Ghevaert et al. 2007b; Tiller et al. 2013; Sachs et al. 2012).

Dabei hängt eine rechtzeitige und optimale Therapie von einer sicheren Risikostratifizierung ab. Mehrere prospektive Studien zeigten in diesem Zusammenhang eine Assoziation zwischen der HPA-1a-Antikörperkonzentration und dem Auftreten schwerer neonataler Thrombozytopenien (Tiller et al. 2017; Killie et al. 2008; Kjaer et al. 2019). Dies führte sogar zur Aufnahme in die norwegischen Leitlinien zur Entscheidung des Geburtsmodus bei FNAIT-erkrankten Kindern (Tiller 2020). Nichtsdestotrotz zeigten diverse retrospektive Studien diese Assoziation nicht und die HPA-1a-Konzentration als Risikomarker ist weiter Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion (Bessos et al. 2005; Ghevaert et al. 2007a; Sainio et al. 2013). Zur Einschätzung des Schweregrades einer FNAIT während des Schwangerschaftsverlaufs gilt weiterhin die vorherige Schwangerschaft als wichtigster Marker des Krankheitsverlaufs (Bussel et al. 1997; Sachs et al. 2012). Sollte das erste erkrankte Kind keine intrakranielle Blutung aufweisen, besteht eine schätzungsweise 7 %-ige Chance einer intrakraniellen Blutung in der Folgeschwangerschaft (Radder et al. 2003). Dabei kann es sinnvoll sein, dass Risiko in drei Schweregrade einzuteilen: 1. Standardrisiko (keine intrakranielle Blutung trotz Immunisierung der Mutter), 2. hohes Risiko (eine intrakranielle Blutung trat zwischen der 28. SSW und bis Ende der ersten Lebenswoche auf), 3. sehr hohes Risiko (eine intrakranielle Blutung oder ein Fruchttod trat vor der 28. SSW auf) (Bussel et al. 2010; Sachs et al. 2012).

1.1.5 Therapie

Das therapeutische Vorgehen bei einer FNAIT wird aufgrund einer unzureichenden Risikostratifizierung sowie fehlender Screening-Möglichkeit individuell gehandhabt und es zeigen sich zentrumsspezifische Unterschiede. Dabei ist die Therapie abhängig von der klinischen Symptomatik, der Thrombozytenzahl und dem Zeitpunkt der Diagnose (prä- vs. postnatal) (Sachs et al. 2012).

Bei einem Neugeborenen mit einer unerwarteten NAIT ist das vorrangige Ziel größere Blutungskomplikationen (intrakraniell, gastrointestinal) zu vermeiden. Dahingegen sollte bei der Verdachtsdiagnose einer FNAIT, unabhängig von der Thrombozytenzahl, eine Screening-Untersuchung (Sonographie oder Magnetresonanztomographie) auf eine intrakranielle Blutung innerhalb von 24 Stunden erfolgen (Lieberman et al. 2019; Sachs et al. 2012). Zudem sollte unmittelbar mit der Festlegung der Verdachtsdiagnose einer FNAIT eine effektive Therapie zur Anhebung der Thrombozytenzahl mittels Thrombozytenkonzentraten initiiert werden. Einheitliche Grenzwerte, ab welcher Thrombozytenzahl eine Thrombozytentransfusion erfolgen soll, sind derzeit nicht vorhanden. Nach vorherrschender Meinung sollte bei fehlenden Blutungszeichen und einer Thrombozytenzahl von unter 30.000/µl eine Thrombozytentransfusion eingeleitet werden. Bei zusätzlich vorliegenden Blutungszeichen besteht die Empfehlung zur Transfusion bei einer Thrombozytenzahl von unter 50 000/µl. (Lieberman et al. 2019; Sachs et al. 2012; Ghevaert et al. 2007b; Kjeldsen-Kragh et al. 2007). Ziel der Therapie sind stabile Thrombozytenwerte von über 50 000/µl bis mindestens zur Vollendung der ersten Lebenswoche (Sachs et al. 2012). Dabei sollten HPA kompatible Thrombozytenkonzentrate verabreicht werden. Bei nicht Vorhandensein dieser sollte eine verzögerte Thrombozytentransfusion vermieden werden und es wird empfohlen während der Überbrückungszeit nicht-kompatible Konzentrate einzusetzen (Lieberman et al. 2019).

Empfehlungen für das therapeutische Vorgehen während der Schwangerschaft sind aufgrund fehlender Fallzahlen in bislang durchgeführten Studien nur bedingt möglich (Sachs et al. 2012). Generell haben nicht-invasive pränatale Therapien invasive Therapieformen wie intrauterine Thrombozytentranfusionen bei einer deutlich niedrigeren Komplikationsrate verdrängt (Vos et al. 2020). Dabei gehören zur nicht-invasiven Behandlung die Infusion von Immunglobulin (Intravenöse Immunglobuline, kurz IVIG) als Monotherapie oder in Kombination mit Steroiden (Sachs et al. 2012;

Lieberman et al. 2019; Vos et al. 2020; Bussel et al. 1988). Der Beginn der Therapie ist Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion. Da thrombozytäre Merkmale allerdings ab der 16. Schwangerschaftswoche exprimiert werden, wird allgemein ein frühzeitiger Beginn empfohlen (Winkelhorst et al. 2017). Der genaue Wirkmechanismus einer IVIG-Therapie ist nicht bekannt. Bisherige Theorien reichen von einer Blockade der FcRn-Rezeptoren, der Inhibierung der plazentare IgG-Übertragung oder der mütterlichen Antikörperproduktion (Sachs et al. 2012). Dabei existieren eine Vielzahl von verschiedenen Therapieprotokollen, die sich in Dosierung, Zeitpunkt, Überwachung und Hinzunahme von Corticosteroiden unterscheiden (Bussel 2009; Kanhai et al. 2007; Sachs et al. 2012; Lieberman et al. 2019).

1.2 Thrombozyten

Thrombozyten (Blutplättchen) sind kernlose, scheibenförmige, korpuskuläre Bestandteile des Blutes mit einem Durchmesser von ca. 2-3 µm. Ihre Hauptfunktion besteht in der Regulation der Hämostase, wobei ihre Rolle in der Angiogenese und der Immunantwort zunehmend an Bedeutung gewinnt (Thon und Italiano 2012). Ihre durchschnittliche Lebensspanne beträgt 8-10 Tage. Anschließend erfolgt der Abbau in dem retikuloendothelialen System der Milz. Ca. ein Drittel der Thrombozyten werden in der Milz gespeichert und bei Bedarf freigesetzt (Kiefel 2014; Hanson und Slichter 1985).

In adulten Individuen ist eine normwertige Thrombozytenzahl zwischen 150.000/µl – 400.000/µl definiert. In einer großen retrospektiven Studie mit 47.000 Neugeborenen zeigte Wiedmeier et al. (2009), dass sich dieser Grenzwert in Neugeborenen verschiedener Gestationsalter unterschied. Bei Neugeborenen, die vor der 32. Schwangerschaftswoche geboren worden, betrug der untere Grenzwert (5. Perzentile) 104.000/µl und bei Neugeborenen, die um die 38./39. Schwangerschaftswoche geboren worden, 123.00/µl (Wiedmeier et al. 2009; Pahal et al. 2000). Bei normaler Thrombozytenfunktion ist eine Thrombozytenzahl von 50.000/µl für eine funktionierende Blutgerinnung (Hämostase) ausreichend (Samama et al. 2005). Ab einer Thrombozytenzahl von ca. 20.000/µl wird die Hämostase zunehmend eigeschränkt und es kann zu spontanen Blutungsereignissen kommen (Slichter 2004). Im Rahmen von Thrombozytenfunktionsstörungen (Thrombozytopathien), bspw. unter bestimmten medikamentösen Therapien (z.B. nicht-steroidale Antiphlogistika), kann es auch bei höheren Thrombozytenzahlen zu Blutungskomplikationen kommen (Kiefel 2010).

Thrombozyten stammen von großen, kernhaltigen Vorläuferzellen, den sogenannten Megakaryozyten, ab (PEASE 1956). Diese befinden sich bei adulten Individuen vornehmlich im Knochenmark und stellen mit ca. 0,01% die seltenste sowie mit einer Größe von 50-100 µm die umfangsgrößte Gruppe der Knochmarkszellen dar (Machlus und Italiano 2013). Fetale Megakaryozyten finden sich ab der 12. Schwangerschaftswoche in der Leber und der Lunge (Pahal et al. 2000). Im Rahmen des Reifeprozesses entwickeln Megakaryozyten Zytoplasmaausläufer, die in die sinusoidale Blutgefäße des Knochenmarks ragen. Von diesen kommt es zur Abschnürung von Membrananteilen, den Prothrombozyten, in die Blutstrombahn. In den Prothrombozyten befinden sich ein spezielles Zytoskelett aus Aktin- und Spectrin-Elementen zur Formveränderung, ein ausgeprägtes peripheres Mikrotubuli-System zur

Formstabilisierung, Mitochondrien zur ATP-Gewinnung, sowie eine Reihe verschiedener Granula (α-Granula, elektronendichte Granulas, Lysosome, Peroxisome) zur Hämostase (Thon und Italiano 2012). Durch weitere Fragmentierung der Prothrombozyten in den Blutgefäßen kommt es zur Bildung der funktionsfähigen Thrombozyten. Die Syntheserate wird über den in der Leber gebildeten Wachstumsfaktor Thrombopoetin gesteuert (Kiefel 2010).

Die Blutgerinnung läuft in zwei Phasen ab, welche als primäre und sekundäre Hämostase bezeichnet werden. In der ersten Phase erfolgt die Abdeckung des Endothelschadens durch die Thrombozyten. Dabei heften sich Thrombozyten mithilfe des Glykoprotein Ib/V/IX-Komplexes an den von-Willebrand-Faktors auf offenliegende Kollagenfasern der Gefäßumgebung an (Clemetson und Clemetson 1995). Im nächsten Schritt erfolgt die Aktivierung der Thrombozyten mit Ausbildung von Pseudopodien und Ausschüttung der in den Thrombozyten gespeicherten diversen Granula. Diese enthalten wichtige Botenstoffe (bspw. ADP) für die Aktivierung weiterer Thrombozyten (Nurden 2011). Mit Hilfe des Glykoprotein IIb/IIIa, das im Blut befindliches Fibrinogen bindet, erfolgt eine Quervernetzung der Thrombozyten untereinander. Es entsteht ein instabiles Netzwerk aus mit Fibrinogen verbundenen Thrombozyten (Hynes 2002). In der zweiten Phase erfolgt die Erstellung eines stabilen Thrombus durch die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin mit Hilfe der Serinprotease Thrombin. Die Aktivierung erfolgt mit Hilfe eines stufenartig und sich selbstverstärkenden Prozesses diverser im Blut befindlichen Gerinnungsfaktoren. Diese Gerinnungskaskade kann durch einen extrinsischen Weg im Rahmen der Gewebeverletzung (Aktivator: Gewebetromboplastin) oder im Rahmen einer endogenen Aktivierung durch sich selbst (intrinsischer Weg) ausgelöst werden. Der Aufbau mittels sich gegenseitig aktivierenden und selbstverstärkenden Gerinnungsfaktoren ermöglicht die schnelle und massive Gerinnungsreaktion. Am Ende führt dies zu einer Verfestigung des Thrombus durch stabile Fibrinverbindungen und den Verschluss des Endothelschadens (O'Donnell et al. 2019).

1.2.1 Thrombozytäre Glykoproteine

Ende der 1960er Jahre begann mit der elektronenmikroskopischen Darstellung einer kohlenhydratreichen, negativ geladenen Außenschicht auf der Thrombozytenmembran („Glykokalyx“) die Suche nach Strukturen, die zur Thrombozytenadhäsion und Aggregation führten (Nurden 2014). Es konnten verschiedene sogenannte Glykoproteine dargestellt werden, die durch Komplexbildung zahlreiche verschiedene Aufgaben im

Rahmen der Hämostase ausführen: Bindung von Agonisten wie ADP, Thrombin, Thromboxan sowie die Interaktion der Thrombozyten mit Endothelzellen, subendothelialer Matrix, Leukozyten und plasmatischen Gerinnungsfaktoren (Kieffer und Phillips 1990; Kunicki 1989). Dabei gehören die meisten Glykoproteine zur Familie der Integrine.

Integrine sind heterodimere Membranproteine, die als Oberflächenrezeptoren eine Verbindung zwischen Zellen untereinander und der extrazelluären Matrix vermitteln. Weiter dienen sie als wichtige Signalvermittler zwischen der Zelle und ihrer Außenwelt, steuern Zellmigration, Zellteilung, Differenzierung und Apoptose (Hynes 1992; Takada et al. 2007). Integrine bestehen jeweils aus einer α- und β-Untereinheit. Dabei sind bestimmte Integrine zellspezifisch, beispielsweise αIIbβ3-Integrin auf Thrombozyten, α6β4-Integrin auf Kreatinozyten oder β-Integrine auf Leukozyten. Es finden sich aber auch weit verbreitet Integrine wie bspw. αVβ3-Integrin - ein von Endothelzellen exprimiertes Integrin (Takada et al. 2007).

Thrombozyten besitzen mindestens fünf verschiedene β-Integrine, die mit einer Alpha-Untereinheit die verschiedenen Glykoproteine bilden und in der nachfolgenden Tabelle dargestellt sind. Die zwei häufigsten auf den Thrombozyten vorkommenden Glykoproteine sind GP IIb/IIIa (αIIb/β3-Integrin) und GP Ib/V/IX (IbαIbβ/V/IX-Integrin) (Vadasz et al. 2015; Modderman et al. 1992; Wagner et al. 1996). Diese besitzen nicht nur eine wichtige physiologische Rolle in der Hämostase, sondern sind auch die Hauptzielantigene in der auto- und alloimmun vermittelten Thrombozytopenie (Vadasz et al. 2015).

GP IIb/IIIa (αIIb/β3-Integrin), Fibrinogen-Rezeptor

Dem thrombozytären Glyokprotein GP IIb/IIIa (αIIb/β3-Integrin) kommt in der Hämostase eine Schlüsselrolle zu, was sich auch in der Expressionszahl von rund 80 000 Kopien auf dem Thrombozyten widerspiegelt (Wagner et al. 1996). Durch Bindung von Fibrinogen kommt es zur Quervernetzung von Thrombozyten und somit zu einem essenziellen Schritt in der Entstehung eines Thrombozyten-Fibrin-Thrombus. αIIb/β3 befindet sich in einem inaktiven Zustand auf der Thrombozytenmembran, in Alpha-Granula sowie im offenen kanalikulären System (OCT). Erst durch eine G-Protein gekoppelte Aktivierung mittels Thrombin, ADP oder Epinephrin kommt es zur Konformationsänderung von αIIb/β3 und Bindung von Fibrinogen. Dieser Mechanismus

verhindert eine unkontrollierte Aggregation von Thrombozyten (Hynes 2002). αIIb/β3 findet sich ausschließlich auf Thrombozyten und Megakaryozyten (Hynes 1992; Kumpel et al. 2008). Im Rahmen der Thrombozytopoese erfolgt im Golgi-Aparat der Megakaryozyten die Verbindung und Prozessierung der αIIb- und β3-Untereinheit (Malamitsi-Puchner et al. 1997). Die αIIb-Untereinheit ist thrombozytenspezifisch und kommt nur in Verbindung mit β3-Integrin vor. β3-Integrin wiederrum findet sich auch in Kombination mit αV-Integrin und bildet den sogenannten Vitronectin-Rezeptor (αV/ β3). Dieser wird von einer Vielzahl von Zellen exprimiert: eingeschlossene Synzytiotrophoblasten und Endothelzellen, welche im Rahmen der Angiogenese und Plazentaentwicklung eine wichtige Rolle spielen (Kumpel et al. 2008; Zdravic et al. 2016; Brooks et al. 1994). GPIIIa (β3-Integrin) ist Träger des Humanenplättchenantigens-1 (HPA-1) (Knight et al. 2011).

GP Ib/V/IX (IbαIbβ/V/IX), von-Willebrand-Faktor-Rezeptor

Das mit 25.000 Kopien pro Thrombozyten zweit häufigste exprimierte Glykoprotein ist der von-Willebrand-Faktor-Rezeptor GP Ib/V/IX (IbαIbβ/V/IX)-Komplex (Modderman et al. 1992). Dieser ebenfalls ausschließlich auf Thrombozyten und Megakaryozyten exprimierter Glykoprotein-Komplex ermöglicht die initiale Plättchenadhäsion an der entstandenen Gefäßverletzung, insbesondere bei hohen Schwergeschwindigkeiten (Zdravic et al. 2016). Offenliegende Kollagenkomponenten der subendothelialen extrazellulären Matrix werden von im Blut zirkulierenden von-Willebrand-Faktor (vWF) besetzt und können von bαIbβ-Integrin gebunden werden. Dabei wird die Bindungsstelle von vWF bei hohen Schwergeschwindigkeiten begünstigt freigelegt, was eine deutlich bessere Bindung im Rahmen hoher Strömungsgeschwindigkeiten erklärt (Bryckaert et al. 2015).

GP Ia/IIa (α2/β1-Integrin), Mg^{2+}-abhängiger Kollagenrezeptor

GP Ia/IIa (α2/β1-Integrin) gehört mit ca. 2.000 Kopien pro Thrombozyten zu den seltener thrombozytären Glykoproteinen. Es vermittelt eine Magnesium-abhängige Kollagenbindung zwischen den Thrombozyten und der extrazellulären Matrix (Staatz et al. 1989; Santoro 1986). α2/β1-Integrin findet sich nicht ausschließlich auf Thrombozyten, sondern ist auf einer Vielzahl anderer Zellen exprimiert. Dabei variiert seine Funktion vom exprimierenden Zelltyp (Estavillo et al. 1999). Auf Fibroblasten dient α2/β1-Integrin als Kollagen-Rezeptor, auf Endothel und Epithelzellen als Kollagen- und

Laminin-Rezeptor. In diesem Zusammenhang spielt er eine wichtige Rolle in der neonatalen Angiogenese (Gullberg 2014; Madamanchi et al. 2014). Weiter hat er eine Funktion in der Proliferation von aktivierten T-Lymphozyten und ist beteiligt in der Migration von Tumorzellen (Sasaki et al. 2003; Madamanchi et al. 2014; Estavillo et al. 1999). Das Humanplättchenantigen-5 (HPA-5) ist auf der α2-Untereinheit von GPIa/IIa lokalisiert. Antikörper gegen HPA-5 verursachen ca. 10-15 % aller FNAIT-Fälle (Rousseau et al. 2004).

1.2.2 Humanes-Plättchenantigen (HPA)

Es werden zwei Gruppen von relevanten Thrombozyten-Antigenen unterschieden. Typ-I-Antigene sind nicht Thrombozyten-spezifisch und werden auch auf anderen Blutzellen sowie auf Gewebezellen exprimiert. Hierzu gehören Blutgruppenantigene (ABH-Antigene), welche auf Erythrozyten die spezifische Blutgruppe definieren und humane Leukozytenantigene der Klasse I (HLA-Klasse-I-Antigene). Typ-II-Antigene sind größtenteils nur auf Thrombozyten und Megakaryozyten zu finden und werden als humane Plättchenantigene (HPA) bezeichnet (Santoso und Kiefel 1998). Humane Plättchenantigene (HPA) werden durch Alloantikörper (Antikörper gegen körperfremde Antigene) definiert, die gegen genetisch festgelegte molekulare Variationen von Proteinen oder Kohlenhydraten auf der Thrombozytenmembran gerichtet sind (Santoso und Kiefel 1998). Die bisher entdeckten humanen Plättchenantigene finden sich auf sieben unterschiedlichen thrombozytären Glykoproteinen: GPIa, GP Ibα, GP Ibβ, GP IIb, GP IIIa, GPIX und CD109.

1990 wurde eine systematische Nomenklatur zur Einteilung des damals teils mehrfach benannten Thrombozyten-Antigens von der Arbeitsgruppe der Internationalen Gesellschaft für Bluttransfusion (ISTB) vorgestellt (Borne und Décary 1990). Dabei wurde „Humane Plättchen-Antigen“ als Bezeichnung festgelegt (engl.: „human platelet antigen“). Die chronologische Nummerierung erfolgt nach dem Erscheinungsdatum der Erstpublikation des Antigens (HPA-1, -2, -3, usw.). Das häufiger vorkommende Allel erhält in alphabetischer Reihenfolge den Buchstaben „a“, das seltenere den Buchstaben „b“. Ein neues Allel wird zunächst mit „w“ für „Workshop“ bezeichnet (Metcalfe et al. 2003). Derzeit sind 41 humane Plättchen-Antigene bekannt. Einen Überblick über die HPA-Nomenklatur (Stand 02/2021) zeigt die untenstehende Tabelle. Insgesamt gehören sechs HPAs biallelischen Antigensystemen an (HPA-1, -2, -3, -4, -5 und -15), die restlichen sind sogenannte niedrig-frequente Alloantigene (Curtis und McFarland 2014).

Der Grund für die Vielzahl an polymorphen Expressionen von humanen Plättchenantigenen beruht auf Punkmutationen einzelner Basen in den codierenden Genen, dem sogenannten Einzelnukleotidpolymorphismus (engl.: single nucleotide polymorphism (SNP)). Hieraus resultiert ein Aminosäureaustausch, der zu einer Veränderung der Tertiärstruktur des Glykoproteins und somit zu neuen HPA-Epitopen führt (Curtis und McFarland 2014). Die einzige Ausnahme findet sich bei HPA-14b. Hier kommt es zu einer Deletion (Lysin 611), die zu einer Strukturänderung des β3-Integrins führt (Santoso et al. 2002). Fetale Thrombozytenantigene werden ab der 16. Schwangerschaftswoche exprimiert (Gruel et al. 1986; Tiller et al. 2017).

Tabelle 1: Klassifikation der humanen Plättchenantigene (HPA) nach System, Antigen, Glykoprotein und CD-Zuordnung

System	Antigen	Orginal Namen	Glykoprotein	CD	Referenz
HPA-1	HPA-1a	Zw^a, Pl^{A1}	GPIIIa / L33P	CD61	van Loghem et al., 1959 Shulman et al., 1961 van der Weerdt et al., 1963
	HPA-1b	Zw^b, PI^{A2}			
HPA-2	HPA-2a	Ko^b	GPIbα / T145M	CD42b	van der Weerdt et al., 1961
	HPA-2b	Ko^a, Sib^a			
HPA-3	HPA-3a	Bak^a, Lek^a	GP IIb / I843S	CD41	von dem Borne et al., 1980 Kickler et al., 1988
	HPA-3b	Bak^b			
HPA-4	HPA-4a	Yuk^b, Pen^a	GP IIIa / R143Q	CD61	Friedman et al., 1985 Shibata et al., 1986
	HPA-4b	Yuk^a, Pen^b			
HPA-5	HPA-5a	Br^b, Zav^b	GPIa / E505K	CD49b	Kiefel et al., 1998 Kiefel et al., 1989
	HPA-5b	Br^a, Zav^a, Hc^a			
HPA-6	HPA-6b	Ca^a, Tu^a	GPIIIa / R489Q	CD61	Kekomaki et al., 1993 McFarland et al., 1993
HPA-7	HPA-7b	Mo^a	GPIIIa / P407A	CD61	Kuijpers et al., 1993
HPA-8	HPA-8b	Sr^a	GPIIIa / R636C	CD61	Kroll et al., 1990
HPA-9	HPA-9b	Max^a	GPIIb / V837M	CD41	Noris et al., 1995
HPA-10	HPA-10b	La^a	GPIIIa/ R62Q	CD61	Peyruchaud et al., 1997
HPA-11	HPA-11b	Gro^a	GPIIIa/ R633H	CD61	Simsek et al., 1994
HPA-12	HPA-12b	Iy^a	GPIbβ/ G15E	CD42c	Kiefel, et al., 1995
HPA-13	HPA-13b	Sit^a	GP Ia/ T799M	CD49b	Santoso et al., 1999

HPA-14	HPA-14b	Oe[a]	GPIIIa /K611del	CD61	Santoso et al., 2002
HPA-15	HPA-15a	Gov[b]	CD109 / S682Y	CD109	Kelton et al., 1990 Smith et al., 1995
	HPA-15b	Gov[a]			
HPA-16	HPA-16b	Duv[a]	GPIIIa / T140I	CD61	Jallu et al., 2002
HPA-17	HPA-17b	Va[a]	GPIIIa / T195M	CD61	Kekomaki et al., 1992
HPA-18	HPA-18b	Cab[a]	GPIa/ Q716H	CD49b	Bertrand et al., 2009
HPA-19	HPA-19b	Sta	GPIIIa / K137Q	CD61	Peterson et al., 2009
HPA-20	HPA-20b	Kno	GPIIb/ T619M	CD41	Peterson et al., 2009
HPA-21	HPA-21b	Nos	GPIIIa/ E628K	CD61	Peterson et al., 2009
HPA-22	HPA-22b	Sey	GPIIb/ K164T	CD41	Peterson et al., 2012
HPA-23	HPA-23b	Hug	GPIIIa/ R622W	CD61	Peterson et al., 2012
HPA-24	HPA-24b	Cab[2a+]	GPIIb/ S472N	CD41	Jallu et al., 2011
HPA-25	HPA-25b	Swi[a]	GPIa/ T1087M	CD49b	Kroll et al., 2011
HPA-26	HPA-26b	Sec[a]	GPIIIa / K580N	CD61	Sachs et al., 2012
HPA-27	HPA-27b	Cab3a+	GPIIb / L841M	CD41	Jallu et al., 2013
HPA-28	HPA-28b	War	GPIIb / V740L	CD41	Poles et al., 2013
HPA-29	HPA-29b	Kha[b]	GPIIIa / T33M†	CD61	Sullivan et al., 2015
HPA-30	HPA-30b	Lab[a]	GPIIb / Q806H	CD41	Wihadmadyatami et al,
HPA-31	HPA-31b	Cab[4b+]	GPIX / P123L	CD42a	Jallu et al., 2017
HPA-32	HPA-32b	Dom[b]	GPIIIa / N174S	CD61	Sullivan et al., 2017
HPA-33	HPA-33b	Bl[a]	GPIIIa / D458G	CD61	Poles et al., 2019
HPA-34	HPA-34b	Bzh[a]	GPIIIa / R91W	CD61	Bertrand et al., 2019
HPA-35	HPA-35b	Efs[a]	GPIIIa / R479H	CD61	Bertrand et al., 2019

1.3 Inflammationsmarker

1.3.1 C-reaktives Protein (CRP)

Das C-reaktive Protein (CRP) gehört zu den wichtigsten Vertretern der Akut-Phase-Proteine, die einen Teil der unspezifischen Immunantwort bilden (Volanakis 2001). Die Akute-Phase-Reaktion umfasst eine unspezifisch physiologische und biochemische Reaktion auf die meisten Formen einer Gewebeverletzung, Infektion, Inflammation oder malignen Neoplasien (Pepys und Hirschfield 2003). Neben dem C-reaktiven Protein sind mehr als 40 weitere Proteine an der Akut-Phase-Reaktion beteiligt (Bsp. Serum-Amyloid-A, Procalcitonin, Ferritin, Fibrinogen u.a.) (Schrödl et al. 2016). CRP gehört zu der phylogenetischen alten und hochgradig konservierten Pentraxin-Protein-Familie, welche eine zyklische pentamere Grundstruktur aus fünf nicht-kovalent gebundenen, identischen Polypeptidketten teilen und jeweils fünf Calcium-abhängige Bindungsstellen besitzen (Volanakis 2001; Mold et al. 1999). Die wesentliche biologische Aufgabe von CRP besteht in der Fähigkeit, Pathogene und beschädigte Zellen zu erkennen (Opsonierung) und deren Beseitigung durch das Komplement-, sowie mononukleär-phagozytäres System einzuleiten (Volanakis 2001). Dabei bindet CRP spezifisch Phosphocholin, das als Bestandteil auf bakteriellen Polysacchariden und auf den meisten biologischen Zellmembranen zu finden ist (Volanakis und Kaplan 1971). Tatsächlich erfolgte die Entdeckung und Benennung im Jahre 1930 aufgrund der Beobachtung, dass CRP Phosphocholin-Reste auf dem C-Polysaccharid von Streptococcus pneumoniae binden und ausfällen konnte (Tillett und Francis 1930). CRP bindet aber auch nicht phosphocholinhaltige Proteinbestandteile, vor allem im Rahmen von apoptotischen Prozessen. Dies beinhaltet Komponenten von beschädigten Zellmembranen wie Phosphatidylcholin oder Sphingomyelin, Zellkernkomponenten wie Histone, Chromatin und snRNA (engl: „small nuclear ribonucleoproteins“), aber auch kapsuläre Bestandteile von Bakterien, Pilzen und Parasiten wie Glykane (Eschborn und Weitkamp 2019; Pepys und Hirschfield 2003; Mold et al. 1999). Sobald eine Bindung von CRP an einen passenden Liganden erfolgt, kommt es zur Aktivierung des Komplementsystems über den klassischen Aktivierungswegs mittels C1q (Volanakis 1982; Mold et al. 1999). Das Komplementsystem ist ein wesentlicher Bestandteil der unspezifischen Immunantwort und spielt in der direkten Zerstörung sowie Opsonierung von Krankheitserregern eine wesentliche Rolle. Es besteht aus über 35 Plasma- und Membranproteinen und zählt zu den enzymatisch katalysierten Proteinkaskadensystemen. Die Aktivierung kann über

einen klassischen (Antikörper vermittelt), alternativen (pathogene Oberflächen) und Lektin-Weg (mikrobielle Polysaccharide) erfolgen (Mold et al. 1999; Sproston und Ashworth 2018). Am Ende der Proteinkaskade (C5-C9) steht die Ausbildung des sogenannten Membranangriffskomplexes, der zur Zerstörung der angegriffenen Struktur führt. Dabei löst CRP, im Gegensatz zur Antikörper-vermittelten Aktivierung, hauptsächlich die Komplementaktivierung der Frühphase (C1-C4) aus und hemmt über die Rekrutierung von Faktor H die weitere Ausbildung des Membranangriffskomplexes in der Spätphase der Komplementkaskade (C5-C9). Hierdurch wird vor allem eine opsonierende Wirkung des Komplementsystems durch CRP genutzt, ohne eine weitere entzündliche Wirkung durch Apoptose und einer damit verbundenen Ausschüttung proinflammatorischen Zytokins zu verursachen (Mold et al. 1999; Sproston und Ashworth 2018; Marnell et al. 2005). Dies wird durch eine Aufspaltung des pentamerischen CRP (pCRP) in Monomore (mCRP) erreicht, die zur Aktivierung von Faktor H, factor-H like protein (FHL-1) und C4b-binding-Protein führen (Mihlan et al. 2011). Weiter sind Phagozyten in der Lage, über FcγRI und FcγRII-Rezeptoren gebundenes CRP zu erkennen und die opsonierte Struktur zu phagozytieren (Marnell et al. 1995; Volanakis 2001).

CRP wird hauptsächlich von Hepatozyten in der Leber gebildet, wobei auch glatte Muskelzellen, Endothelzellen, Lymphozyten sowie Adipozyten die Fähigkeit zur Synthese besitzen (Sproston und Ashworth 2018; Hurlimann et al. 1966). Der Hauptinduktor für die CRP-Produktion ist Interleukin-6 (H.J. Moshage et al. 1988). Interleukin-1 und Tumornekrose-Faktor-Alpha (TNF-α) zeigen einen synergetischen Effekt auf die Produktion (Marnell et al. 2005; Mackiewicz et al. 1991). Die Ausschüttung beginnt innerhalb von 4-6 Stunden nach Stimulationsereignis und erreicht nach 36-48 Stunden den Höchstwert (Eschborn und Weitkamp 2019). Dabei kann bei schweren Verletzungen oder Infektionen eine bis zu 1000-fache Plasmakonzentration erreicht werden (Agassandian et al. 2014). Die Plasma-Halbwertszeit beträgt ca. 18-20 Stunden. Bei jungen, adulten Blutspendern beträgt die mediane CRP-Plasmakonzentration 0,8 mg/l (Pepys und Hirschfield 2003).

Im Gegensatz dazu zeigen Neugeborene höhere CRP-Plasmakonzentrationen sowie eine Konzentrationsdynamik über den Zeitraum von 96 Stunden. Nach Bellieni et al. (2014) beträgt die mediane CRP-Plasmakonzentration 12 Stunden nach Geburt 0,5 mg/l (0,01–4,6), nach 24 Stunden 1,7 mg/dl (0,2–15,4), nach 48 Stunden 3,0 mg/l (0,4–17,7), nach

72 Stunden 4,3 mg/l (0,5–13,1) und nach 96 Stunden 4,0 mg/l (0,4– 11,3). Ähnliche Ergebnisse zeigten weitere Studien von (Perrone et al. 2018; Mjelle et al. 2019). Dabei kann es aber zur signifikanten Veränderung der CRP-Plasmakonzentration aufgrund diverser Faktoren kommen (Tiozzo und Mukhopadhyay 2022). So kommt es zu einer Erhöhung der CRP-Plasmakonzentration um 0,4 % pro Stunde ab dem Blasensprung, um 14,5 % pro Stunde Geburtsdauer, um 28 % bei einer intrapartalen Antibiotikatherapie und um 40 % bei einer vorgeburtlichen Steroidtherapie (Eschborn und Weitkamp 2019; Chiesa et al. 2003). Weiter führen eine vaginale Geburt im Vergleich zu einem Kaiserschnitt, mütterliches Fieber/Infektion, die Höhe des Geburtsgewichts (pro 100g um 2,4 %) zu einer erhöhten CRP-Plasmakonzentration (Tiozzo und Mukhopadhyay 2022; Chiesa et al. 2003). Eine Verringerung der CRP-Plasmakonzentration zeigt sich bei sinkendem Gestationsalter (6 % pro Woche) (Hofer et al. 2011). In der klinischen Praxis ist CRP einer der wichtigsten Entzündungsmarker bei infektiösen und inflammatorischen Prozessen.

1.3.2 Procalcitonin (PCT)

Procalcitonin ist ein 14-kDa schweres Peptid, bestehend aus 116 Aminosäuren. Es ist eine Vorstufe des Schilddrüsenhormons Calcitonin ohne eigene hormonelle Aktivität (Le Moullec et al. 1984; Moya et al. 1975; Aloisio et al. 2019). Das Procalcitonin-Gen (CALC-1) liegt auf Chromosom 11 und wird unter physiologischen Zuständen fast ausschließlich von C-Zellen der Schilddrüse exprimiert (Broad et al. 1989). Die Geninduktion erfolgt über erhöhte Calcium-Werte, Glukagon, Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), Gastrin oder β-adrenerge Stimulation. Dabei wird fast das gesamte, in dem Golgi-Apparat der C-Zellen gespeicherte, Procalcitonin in Calcitonin prozessiert, was sich an sehr geringen PCT-Plasmakonzentrationen in gesunden Menschen zeigt (<0·05 ng/ml) (Mangogna et al. 2019; Jacobs et al. 1981; Müller et al. 2001). Das fertig prozessierte Calcitonin dient zur Regulierung des Calciumhaushaltes (COPP et al. 1962).

Während einer systemischen Entzündung erfolgt die Hochregulierung und dauerhafte Expression von CALC-1 in fast allen Organen und Körperzellen (Meisner 2002; Müller et al. 2001). Dies kann zu einem massiven Anstieg (1000-fache) der PCT-Plasmakonzentration führen und zeigt sich vor allem bei bakteriellen Infektionen (Mangogna et al. 2019; Assicot et al. 1993). Die Procalcitonin-Sekretion beginnt 2-4 Stunden nach Stimulationsereignis, maximale Werte werden nach 12-24 Stunden erreicht und die Procalcitonin Halbwertszeit beträgt ca. 24 Stunden (Brunkhorst et al. 1998). Die

Stimulation der Synthese erfolgt auf zwei verschiedene Wege. Zum einen über eine direkte Stimulation durch bakterielle Endotoxine (Bsp. Lipopolysaccharide), zum anderen über eine indirekte Stimulation durch proinflammatorische Cytokine wie IL-6, IL-1β, IL-8 und TNF-α (Oberhoffer et al. 1999; Dandona et al. 1994; Matwiyoff et al. 2012).

Im Gegensatz dazu zeigt sich eine Verminderung der PCT-Synthese durch die Stimulation mittels Interferon-γ, welches insbesondere bei viralen Infekten und autoimmun Geschehen freigesetzt wird (Linscheid et al. 2003).

Bei einer systemischen Entzündung ist die biologische Funktion von Procalcitonin weitestgehend unbekannt (Mangogna et al. 2019). Es zeigt sich bei in vitro Stimulation von peripheren Blutzellen mittels Procalcitonin eine Erhöhung von proinflammatorischen Zytokinen (IL-6, TNF-α und IL-1β) mit einem positiven Rückkopplungseffekt auf die weitere Procalcitonin-Ausschüttung (Liappis et al. 2011). Weiter konnte gezeigt werden, dass Procalcitonin in vitro als chemischer Lockstoff für Monozyten dient und die Chemotaxis von anderen Inflammationsmediatoren hemmt (Wiedermann et al. 2002). Zudem zeigte sich eine durch Procalcitonin induzierte Verringerung einer Lipopolysaccherid-induzierten TNF-α-Ausschüttung bei menschlichen Leukozyten. Somit könnte Procalcitonin eine anti-inflammatorische Aufgabe zukommen, um eine überschießende Entzündungsreaktion zu hemmen. Eine LPS-induzierte IL-1, IL-6, und IL-8 Ausschüttung wurde durch Procalcitonin aber nicht beeinflusst (Monneret et al. 2000; Matwiyoff et al. 2012). Im Gegensatz dazu konnte in Tierstudien ein Zusammenhang zwischen erhöhten Procalcitonin-Werten und höheren Todesraten nachgewiesen werden (Steinwald et al. 1999). Dabei zeigten weitere Studien mit Hamstern und Schweine eine Senkung der Mortalität bei Sepsis nach gezielter Verringerung der Procalcitonin-Konzentration mittels PCT-Antikörper (Nylen et al. 1998; Wagner et al. 2002). Dies könnte in Zusammenhang mit einer Beeinträchtigung der Endothelfunktion stehen, die durch eine Procalcitonin ausgelöste Verringerung der endothelialen Barrierefunktion zustande kommt (Wagner et al. 2017). Zudem zeigte sich in vitro eine durch Procalcitonin ausgelöste Verschlechterung der Leberfunktion und Reduzierung der Hepatozytenvitalität (Sauer et al. 2017). Procalcitonin zeigt eine komplexe Genregulation und hat wahrscheinlich eine angedachte Expression und physiologische Funktion auf Gewebe- und Zellebene (anti-inflammatorisch). Durch eine systemische bakterielle Infektion könnte es zu einer Überstimmulation in den Zellen des

gesamten Körpers kommen, was beschriebene negative Auswirkungen zur Folge haben könnte (Matwiyoff et al. 2012).

Aufgrund der diskriminierenden Eigenschaft nicht-infektiöse und infektiöse systemische Entzündungen, insbesondere eine Sepsis, zu unterscheiden, ist Procalcitonin als diagnostischer Marker und zur Steuerung von antibiotischen Therapien anerkannt (Reinhart et al. 2012; Kopterides et al. 2010). Limitationen bestehen bei Erkennung von Pilz- und Virusinfektion, Infektionen durch intrazelluläre Mikroorganismen (Bsp. Mycoplasmen) oder lokalen Infektionen ohne systemische Auswirkung (Chalupa et al. 2011; Reinhart et al. 2012). Weiter zeigte sich eine Erhöhung der Procalcitonin-Plasmakonzentration bei Schilddrüsenkarzinomen (Bihan et al. 2003), kleinzelligen Lungenkarzinomen (Patout et al. 2014), Nierenfunktionsstörungen (Jeeha et al. 2018), Verbrennungen und großen Operationen (Reinhart et al. 2012; Sponholz et al. 2006; Mangogna et al. 2019).

Ähnlich wie C-reaktives Protein zeigt Procalcitonin ebenfalls eine Konzentrationsdynamik bei Neugeborenen in den ersten 96 Stunden nach Geburt (Eschborn und Weitkamp 2019). Nach Chiesa et al. (2011) beträgt die mediane Procalcitonin-Plasmakonzentration bei gesunden Neugeborenen nach der Geburt 0,08 µg/L (0,01–0,55), steigt nach 24 Stunden auf maximal 2,9 µg/L (0.4–18.7) und fällt dann binnen 80 Stunden auf ein Minimum von 0,3 µg/L (0.04–1.8). Ähnliche Ergebnisse zeigte eine weitere Studie von (Turner et al. 2006). Beeinflusst wird die Procalcitonin-Konzentration durch das Geburtsgewicht, Gestationsalter und der Dauer des Blasensprungs (Eschborn und Weitkamp 2019). Dabei verringert sich die Procalcitonin-Konzentration um 2,2 % pro 100 g Gewicht und 11,4 % pro Woche Gestationsalter (Chiesa et al. 2011). Weiter erhöht sich die Konzentration mit der Dauer des Blasensprunges (Turner et al. 2006). Dabei zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der kindlichen und mütterlichen Procalcitonin-Konzentration (Assumma et al. 2000; Turner et al. 2006).

1.3.3 Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1)

Soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) oder löslicher vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor-Rezeptor-1 (engl.: soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sVEGFR-1)) ist die im Blut gelöste Form des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor-Rezeptor-1 (VEGFR-1) (Kendall und Thomas 1993). Dieser dient als

einer von drei bekannten Tyrosinkinase-Rezeptoren (VEGFR-1/-2/-3) als Signaltransduktor für die Gruppe der vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (engl.: vascular endothelial growth factor (VEGF)) (Melincovici et al. 2018). VEGFs sind potente angiogenetische Signalmoleküle, die in der embryonalen Phase die Neubildung von Blut- und Lymphgefäßen (Vaskulogenese) und nach der Geburt das Wachstum von Blut- und Lymphgefäßen (Angiogenese) steuern (Melincovici et al. 2018; Risau 1997; Olsson et al. 2006; Olofsson et al. 1998; Yamazaki und Morita 2006). Zudem spielen diese in der pathologischen Angiogenese und im Pathomechanismus einiger Krankheiten wie bspw. im Tumor- und Metastasen-Wachstum, bei rheumatologischen Erkrankungen oder bei der Präeklampsie, eine wichtige Rolle (Folkman 1995; Ahmad und Ahmed 2004; Taylor 2002; Carmeliet 2005).

Das humane VEGF-Gen liegt auf Chromosom 6 (p21.3) und gehört zu der Cystin-Knoten-Familie (GFCK) (Vincenti et al. 1996; Melincovici et al. 2018). Die VEGF-Familie beinhaltet acht Mitglieder: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E (virales VEGF, Parapoxvirus), VEGF-F (Bestandteil von Schlangengift), Plazenta-Wachstumsfaktor (engl.: placenta growth factor (PlGF)) und EG-VEGF (engl.: endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor) (Melincovici et al. 2018).

VEGFR-1 und VEGFR-2 werden überwiegend auf Endothelzellen exprimiert (Ferrara et al. 1992). VEGFR-1 findet sich daneben noch auf Leukozyten, Monozyten, Makrophagen (Barleon et al. 1996), hämpoetischen Vorläuferzellen (Kaplan et al. 2005), Trophoblasten (Charnock-Jones et al. 1994), Mesangiumzellen der Niere (Takahashi et al. 1995), Tumorzellen (Itakura et al. 2000) und glatten Gefäßmuskelzellen (Melincovici et al. 2018). VEGFR-1 und VEGFR-2 binden beide VEGF-A, wobei VEGFR-1 als einziger VEGF-Rezeptor VEGF-B sowie PlGF binden kann (Olofsson et al. 1998; Vries et al. 1992). Dabei hat VEGFR-1 eine bis zu 10-mal höhere Bindungsaffinität mit VEGFs als VEGFR-2, aber auch eine geringe Thyrosinkinase-Aktivität (Failla et al. 2018; Terman et al. 1994). Dies spiegelt sich auch in der physiologischen Rolle bei der embryonalen Vaskulogenese wider. VEGFR-1 scheint in der Differenzierung von Endothelzellen, aber nicht in der Proliferation und Migration dieser, beteiligt zu sein (Melincovici et al. 2018). VEGFR-2 hingegen steuert die Migration, Proliferation, das Überleben und die Gefäßpermeabilität von Endothelzellen (Cébe-Suarez et al. 2006). Man geht davon aus, dass durch die höhere Bindungsaffinität von VEGFs an VEGFR-1, eine Bindung mit VEGFR-2 gehemmt wird („VEGF-sink“) (Hiratsuka et al. 1998). Hierdurch kommt es zu

einer Hemmung der Endothelzellen-Proliferation und Migration, welche eine überschießende Angiogenese verhindern soll (Failla et al. 2018). Diese Rolle scheint auch sFlt-1 (sVEGFR-1) einzunehmen. Durch alternatives Spleißen des VEGFR-1-Gens entsteht eine lösliche Form von VEGFR-1, sFlt-1, die keine transmembrane oder intrazelluläre Domäne besitzt. Die Fähigkeit VEGF-A und PlGF zu binden, besteht aber weiterhin (Kendall et al. 1996; Melincovici et al. 2018). Damit wirkt sFlt-1 hemmend auf die Vaskulogenese und Neoangiogenese. Dies zeigt sich bspw. in der fehlenden Vaskularisierung der Hornhaut des Auges (Cornea), bei der sFlt-1 eine entscheidende Rolle spielt (Ambati et al. 2006). Weiter dient sFlt-1 wahrscheinlich als Führungsmolekül im Gefäßwachstum. Durch eine sFlt-1-Ausschüttung von Endothelzellen erfolgt eine lokale Inaktivierung von VEGF-A. Somit entsteht ein VEGF-A-Gradient, der das Wachstum des Gefäßes in die richtige Richtung lenkt (Failla et al. 2018; Chappell et al. 2009; Kappas et al. 2008).

VEGFR-1 und VEGF-A werden vermehrt unter Sauerstoffmangel (Hypoxämie) gebildet (Gerber et al. 1997). Dabei ist die Expression von sFlt-1 nicht vollständig geklärt. So zeigt sich eine verminderte Expression von sFlt-1 bei Endothelzellen unter Hypoxämie (Ikeda et al. 2011). Eine erhöhte Expression zeigt sich aber bei Makrophagen und Monozyten unter Beteiligung von Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktor (GM-CSF) und begleitender Hypoxämie (Eubank et al. 2011). Weiter zeigt sich eine erhöhte Expression von sFlt-1 unter Interleukin-4 bei Makrophagen und Interleukin-6 bei Endothelzellen (Ikeda et al. 2011; Wu et al. 2015). Dies spiegelt sich in erhöhten sFlt-1-Werten in inflammatorischen Geschehen, bspw. einer Sepsis oder Tumorerkrankung, wider (Ruffini et al. 2011; Shapiro et al. 2008). Menschliche Trophoblasten exprimieren zudem eine Isoform von sFlt-1, sFlt-1-14. Bei einer gestörten Plazentation und daraus resultierender Gewebehypoxämie erfolgt die Ausschüttung von sFlt-1 und -14. Dies führt zu einer generalisierten Endotheldysfunktion und stellt einen wichtigen Teil des Pathomechanismus der Präeklampsie dar (Thomas et al. 2009; Failla et al. 2018).

Derzeit existieren nur wenige Studien, die die sFlt-1-Konzentration in Neugeborenen untersucht haben. Daten über den Konzentrationsverlauf sowie den Einfluss verschiedener externer und interner Faktoren (Gestationsalter, Geburtsgewicht, Geburtsmodus, Blasensprung, Infektionen oder anderweitige Erkrankung) sind daher kaum vorhanden. Voller et al. (2014)zeigte eine mediane sFlt-1-Konzentration bei Neugeborenen über 2000 g von 399 pg/ml (193-941, n=36). Eine Studie zur

Schilddrüsendysfunktion von (Korevaar et al. 2014) zeigte in der gesamten Kohorte eine mediane sFlt-1-Konzentration von 450 pg/ml (90-4 640, n=3525). (Hentges et al. 2015) zeigte eine mediane sFlt-1-Konzentration von 318 pg/mL (182–454, n=51). Die Blutabnahmen erfolgten aber im Zeitraum von 72 Stunden nach Geburt. Weitere Studien sind aufgrund von kleinen Kohorten oder pathologischen Gestationsalter bzw. Geburtsgewicht nur bedingt zur Normwertbeurteilung geeignet. Beeinflusst wird die sFlt-1-Konzentration durch das Gewicht des Neugeborenen. So zeigte sich eine erhöhte sFlt-1-Konzentration bei erniedrigten Gewicht (Voller et al. 2014). Zudem zeigte sich ein Zusammenhang mit Schilddrüsendysfunktionen (Korevaar et al. 2014).

1.3.4 Cluster-of-differention-14

CD-14 (Cluster-of-differention-14) ist ein 55kDa schweres Glykoprotein, welches hauptsächlich auf der Zelloberfläche von myelomonozytären Zellen (Monozyten und Makrophagen) zu finden ist (Zanoni und Granucci 2013). Weiter werden auch geringe Mengen von CD-14 von nicht-myelomonozytären Zellen wie bspw. Adipozyten und Epithelzellen des Darmes exprimiert (Fernández-Real et al. 2011; Funda et al. 2001). CD-14 gehört zu dem Glykosylphosphatidylinositol-Anker-(GPI)-Proteinen, mit diesem es in der Zellmembran befestigt ist. Darüber hinaus existiert eine lösliche Isoform (sCD14) ohne GPI-Anker (Haziot et al. 1988; Zanoni und Granucci 2013). Einer der Hauptaufgaben von CD-14 besteht in der Bindung von bakteriellen Lipopolyssaccheriden (LPS) und der Aktivierung der angeborenen Immunantwort über Toll-like Rezeptoren (TLR) (Zanoni und Granucci 2013). Daneben kann CD-14 eine Vielzahl weiterer exogener und endogener Moleküle wie bspw. Hitzeschock-Proteine, Phospholipide, Amyloid oder Peptidoglykane binden (Wu et al. 2019).

Toll-like-Rezeptoren (TLRs) sind ein Teil der Pattern-Recognition-Rezeptoren (PRR, deutsch: Mustererkennungsrezeptoren) (Janeway 1989). Diese können evolutionär hochgradig konservierte Komponenten von Mikroorganismen (Viren, Bakterien, Pilze, Parasiten), sog. PAMPs (engl.: microbe-associated molecular patterns), erkennen und eine Immunantwort initiieren. Hierdurch können Erreger bekämpft werden ohne, dass das Immunsystem zuvor Kontakt mit diesem Erreger hatte (Medzhitov 2007; Cao 2016). PPRs finden sich auf einer Vielzahl von Immunzellen, bspw. dendritischen Zellen oder Makrophagen (Zanoni und Granucci 2013; Wright et al. 1990; Joffre et al. 2009). Dabei stellen die Toll-Like-Rezeptoren (TLRs) die meist untersuchteste Gruppe der PPRs dar. Zu der TLR-Familie gehören 13 verschiedene Rezeptoren (Ciesielska et al. 2021). TLR-4 dient dabei zur Erkennung von Lipopolysacchariden, die sich hauptsächlich auf der Zellmembran von gram-negativen Bakterien finden (Wu et al. 2019; Poltorak et al. 1998). Die durch TLR-4 eingeleitete Signalkaskade ist ein komplexer Prozess, an welchem am Ende die Ausschüttung von pro-inflammatorischen Mediatoren und die Veränderung des Zellmetabolismus steht und somit die Einleitung der angeborenen Immunantwort initiiert wird (Ciesielska et al. 2021).

Dabei beginnt diese Kaskade mit der Bindung von im Serum befindlichen LPS durch LPS-Binding-Protein (LBP). Das an LBP gebundene LPS-Monomer wird von CD-14 erkannt und dem TLR-4/MD2-Rezeptor präsentiert (Gioannini et al. 2005; Yu und Wright

1996). Dabei dient CD-14 als Co-Rezeptor für den TLR-4/MD2-Rezeptorkomplex und ist in der Lage, LPS-Konzentrationsmengen im Pikogramm-Bereich zu erkennen (Gioannini et al. 2004). Sowohl das membrangebundene mCD-14 als auch das lösliche sCD-14 können beide als Co-Rezeptor fungieren und dem TLR-4/MD2-Rezeptor LPS präsentieren (Gioannini et al. 2005; Ryu et al. 2017). Lösliches sCD-14 kann auf zwei unterschiedliche Weisen freigesetzt werden. Zum einen durch einen Protease-abhängigen Weg, bei dem es zur Abspaltung des GPI-Ankers auf der Zellmembran oder intrazellulär nach Phagozytose kommt. Zum anderen durch einen Protease-unabhängigen Weg mit direkter Produktion von sCD-14 ohne GPI-Anker (Bufler et al. 1995; Ciesielska et al. 2021). Eine vermehrte Ausschüttung erfolgt dabei in Kontakt mit PAMPS, bspw. LPS (Marcos et al. 2010). Durch die Bindung mit LPS werden CD-14 und der TLR-4/MD2-Rezeptor auf sog. Lipid rafts (deutsch: Lipidflöße) positioniert. Diese dienen als Signalplattformen und ermöglichen die weiteren Signalreaktionen (Schmitz und Orsó 2002). Vereinfacht dargestellt laufen nun zwei durch TLR-4 aktivierte Reaktionsketten nacheinander ab (Zanoni und Granucci 2013). Zunächst erfolgt die Aktivierung der TIRAP-MyD88-abhängigen Reaktionskette von der Zellmembran aus, welche zur Aktivierung von NF-κB und MAPK führt. Diese aktivieren wiederum die Transkription von proinflammatorischen Faktoren wie bspw. TNF-α, IL-1β, IL-6 (Kawai et al. 2001; Ciesielska et al. 2021; Lawrence 2009). Anschließend erfolgt die Endozytose des „lipid rafts“ und die Aktivierung der TRAM-TRIF-abhängigen Reaktionskette aus dem Endosom heraus, welche in einer verzögerten Aktivierung von NF-κB und in der Produktion von Interferon-Beta (IFN-β) endet. Dabei ist die Aktivierung der TLR4/TRAM-TRIF-Reaktionskette absolut abhängig von CD-14 und somit auch die IFN-β-Ausschüttung (Jiang et al. 2005; Zanoni et al. 2011; Zanoni und Granucci 2013). Im Gegensatz dazu kann eine hohe LPS-Konzentration allein die TIRAP-MyD88-abhängigen Reaktionskette auslösen (Zanoni und Granucci 2013). Daneben kann CD-14, TLR-4 unabhängig, eine LPS-aktivierte Signaltransduktion in myeloischen Zellen (bspw. Dendritischen Zellen) auslösen (Zanoni et al. 2009). Dies erfolgt über eine NFAT-Reaktionskette, die in einer IL-2- und Prostaglandin-E2 (PEG2) -Produktion sowie Initiierung von pro-apoptotischen Signalen in terminal differenzierten dendritischen Zellen endet. Dabei ist die CD-14-abhängige IL-2-Ausschüttung mitentscheidend für die IFN-γ-Produktion von Natürlichen Killerzellen, welche wiederrum Makrophagen aktivieren und CD4+-T-Zellen rekrutieren (Newman und Riley 2007). Die CD-14-abhängige PEG2-Ausschüttung spielt dabei eine wichtige Rolle in der infektbedingten

Ödembildung (Zanoni und Granucci 2013). Diese wird durch eine PEG-2-abhängigen Vasodilatation ausgelöst (Legler et al. 2010; Zanoni et al. 2012).

Neben der Erkennung von PAMPS spielt CD-14 ebenfalls eine Rolle bei der Erkennung von Molekülen, die bei Gewebeschäden und Zelltod auftreten, sog. DAMPs (damage-associated molecular patterns) (Zanoni et al. 2017). Dies ähneln PAMPs in der Molekülstruktur und werden deswegen von den gleichen Rezeptoren erkannt (Bianchi 2007). oxPAPC (engl.: oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-phosphatidylcholine) ist eine Mischung aus oxidierten Phospholipid-Derivaten, die im Rahmen des Zelltodes entstehen (Zanoni et al. 2017). Diese zeigen eine große Ähnlichkeit zu Lipopolysacchariden, lösen keine TLR-4-Reaktion aus, werden aber von CD-14 erkannt und gebunden (Zanoni et al. 2017; Wu et al. 2019). Es erfolgt die Endozytose des CD-14/oxPAPC-Komplexes und die Bindung mit Caspase-11. Dies führt zur Entstehung eines sog. Inflammasoms und im Weiteren zur Ausschüttung von IL-1β und IL-18 (Shi et al. 2014; Zanoni et al. 2017). Dies spielt in der frühen Regulation von dendritischen Zellen sowie in der Aktivierung von T-Zellen eine wichtige Rolle. Weiter entsteht durch die Endozytose von CD-14 ein induzierter CD-14-Mangel auf der Plasmamembran, welcher eine weitere LPS-Reaktion signifikant unterdrückt. Somit führt eine oxPAPC induzierte CD-14 Bindung zu einer Inhibierung der MyD88 und TRIF-Reaktionskette. Diese Inhibierung erfolgt aber nur, wenn es nicht zuvor zu einer LPS-Stimulation gekommen ist (Zanoni et al. 2017).

Derzeit existieren nur wenige Studien, die die sCD14-Konzentration in Neugeborenen untersucht haben. Eine größere Zahl der Studien befasst sich mit einem Subtyp von sCD-14, Presepsin (sCD-14-ST), das bei neonataler Sepsis genauer betrachtet wird (Maddaloni et al. 2021). Martinez et al. (2014) zeigte eine mediane sCD-14-Konzentration bei Neugeborenen von 0,32 µg/ml (0,2 – 0,5). Es konnte kein signifikanter Einfluss der sCD-14-Konzentration auf das Geschlecht, den Geburtsmodus, die CRP-Konzentration und weiße Blutkörperchen festgestellt werden. In der Kontrollgruppe von Berner et al. (2002) bei einer Studie zur early-onset Sepsis bei Neugeborenen zeigte sich eine mediane sCD-14-Konzentration von 0,28 ug/ml (0,21-0,36). Weitere Studien zeigten ähnliche Ergebnisse (Guerra et al. 2004; Lundell et al. 2007; Zdolsek und Jenmalm 2004).

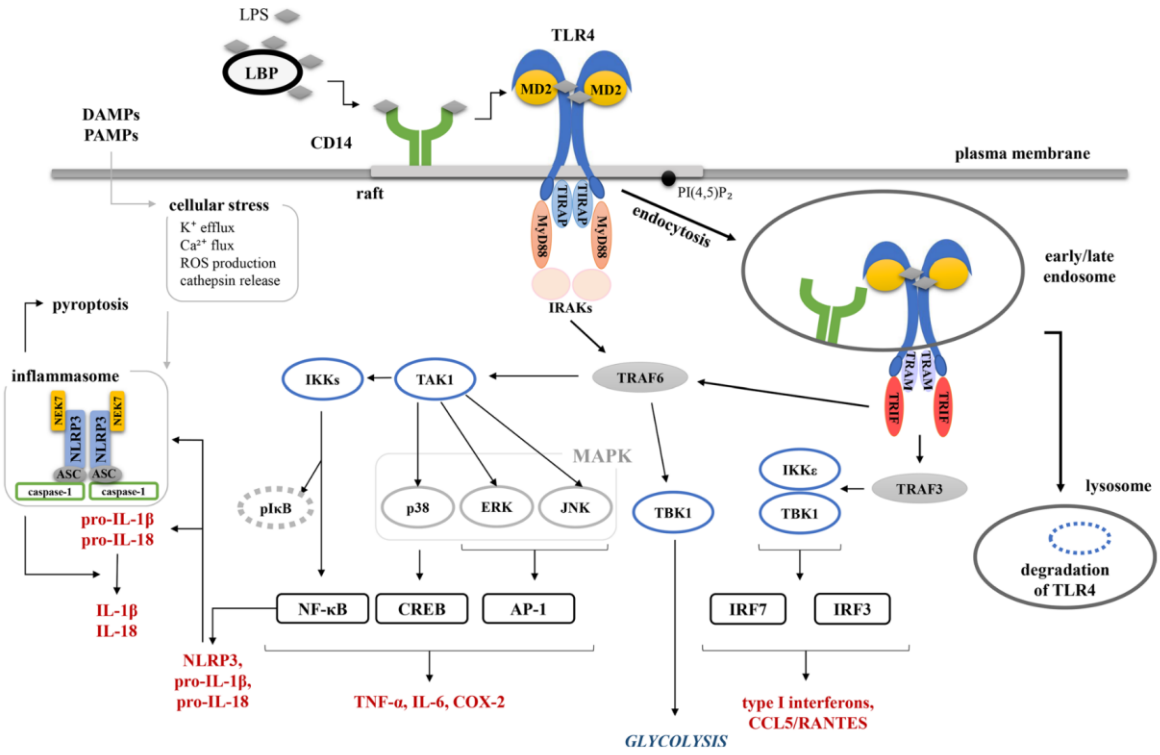


Abbildung 1: CD-14/TLR-4-vermittelte Erkennung von Lipopolysacchariden und Aktivierung proinflammatorischer Signalwege (Ciesielska et al. 2021)

1.4 Zielsetzung

Der Pathomechanismus der fetalen und neonatalen Alloimmunthrombozytopenie ist bislang nicht ausreichend verstanden. Es zeigt sich eine Diskrepanz zwischen der Erkrankungshäufigkeit in Screening-Studien und einer tatsächlich relevanten Erkrankungsausprägung. Dabei ist unklar, warum eine große Variabilität in dem Schweregrad der Erkrankung besteht, im gravierendsten Fall Verlust des Kindes oder eine Hirnblutung (Winkelhorst et al. 2020; Sachs et al. 2012). Die frühe Expression von GP-IIIa als Träger des Merkmals HPA-1a auf Synzytiotrophoblasten in der 10. Schwangerschaftswoche könnte ein Hinweis sein, dass es zu einer Antigenpräsentation in der Plazenta und nicht durch kindliche Thrombozyten ab der 16. SSW kommt. Dies hat eine frühe plazentare Entzündung zur Folge, was sich in einem geringeren Geburtsgewicht (IGUR) bei FNAIT-symptomatischen Kindern widerspiegelt (Kumpel et al. 2008; Snir et al. 2010; Tiller et al. 2012). Eine Arbeitsgruppe um Kapur et. al (2015) stellte die Hypothese auf, dass CRP eine IgG-induzierte Phagozytose von Thrombozyten im Rahmen einer ITP begünstigt. Somit würde eine systemische Inflammation eine durch thrombozytäre Antikörper induzierte Thrombozytopenie verstärken (Kapur et al. 2015). Eine schwere Thrombozytopenie ist derzeit das einzige Merkmal, das mit dem Auftreten einer intrakraniellen Blutung korreliert (Ghevaert et al. 2007b). Es besteht aber der Verdacht, dass ein synergetischer Effekt zwischen einer beeinträchtigten Angiogenese (Gefäßschäden) und einer Thrombozytopenie (unzureichende Gerinnung) die Ursache von schweren Blutungsereignisse darstellt (Yougbaré et al. 2015). Eine Erhöhung der sFlt-1-Konzentration, die auch im Rahmen einer plazentaren Entzündung zu beobachten ist, könnte eine Beeinträchtigung der Angiogenese mitverursachen.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob eine plazentare oder systemische Entzündung eine Bedeutung für den Schweregrad der Erkrankung FNAIT hat. Zur Beantwortung dieser Frage erfolgt in der vorliegenden Studie die retrospektive Analyse von 50 FNAIT-positiven Neugeboren-Seren mittels Luminex-Assay auf die Entzündungsmarker C-reaktives Protein, Procalcitonin, soluble fms-like Thyrosinkinase-1 (sFlt-1) sowie soluble Cluster-of-differentation-14 (sCD-14) im Vergleich zu 50 FNAIT-negativen Neugeborenen-Seren.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenseren

Alle untersuchten Patientenproben wurden für diagnostische und konsiliarische Zwecke von Kliniken aus ganz Deutschland, dem Institut für klinische Immunologie und Transfusionsmedizin Gießen zugesandt. Die Blutentnahme wurde durch die in den verschiedenen Kliniken tätigen Ärzten durchgeführt.

Die Nativblutproben wurden 10 Minuten bei 3 000 UpM (Umdrehungen pro Minute) zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein Röhrchen überkippt und erneut bei 3 000 UpM für 10 Minuten zentrifugiert. Danach wurde das gewonnene Serum in 1,75 ml Mikroreaktionsgefäße portioniert. Mit dem erhaltenden Serum wurden die gewünschten diagnostischen Tests durchgeführt. Der Rest der Probe wurde bei -20 °C eingelagert. Diese Arbeit wurde durch medizinisch-technische Assistentinnen der Abteilung des Thrombozyten- Labors Gießen durchgeführt.

Die zu untersuchende Kohorte wurde auf n=100 festgelegt, aufgeteilt in zwei Gruppen zu je 50 Patienten. Gruppe 1 (n=50), die Untersuchungsgruppe, beinhaltete Seren von Neugeborenen, deren Mütter einen nachgewiesenen Antikörper gegen das Merkmal HPA-1a enthielten. Weitere Kriterien waren ausreichend vorhandenes Patientenserum und eine vollständige klinische Geschichte sowie Laborwerte.
Ein Teil dieser Gruppe (n=11) waren Kinder, die zusätzlich eine intrakranielle Blutung aufwiesen. Die Proben stammten aus den Jahren von 2000 bis 2015.

Gruppe 2 (n=50), Kontrollgruppe, beinhaltete Seren von Neugeborenen, bei denen kein Antikörper gegen jegliche Merkmale, die zu einer FNAIT führen können, nachgewiesen worden waren. Diese wurden zeitlich auf die verschiedenen Jahrgänge der Proben der Untersuchungsgruppe angepasst. Dabei wies ein Patient (n=1) eine intrakranielle Blutung auf.

In dieser Studie wurden nur Patienten mit Antiköpern gegen das Merkmal HPA-1a untersucht. Alle weitern HPA-Antikörperspezifitäten wurden außer Acht gelassen.

Die Ethik-Kommission am Fachbereich Medizin unter dem Vorsitz von Prof. Dr. K.L. Schmidt stimmte unter dem AZ. 82/09 dem Antrag von Prof. Dr. Ulrich Sachs „Datensammlung bei Patienten mit Verdachtsdiagnose neonatale

Alloimmunthrombozytopenie“ zu. Einem Amendment wurde am 07.04.2014 durch den Vorsitzenden Prof. Dr. H. Tillmanns zugestimmt.

2.2 Luminex Assay

Mit dem von der Luminex Corperation in den späten 1990er entwickeltem xMAP-Verfahren (x=Analyt, MAP=Multi-Analyt-Profiling) ist es möglich, verschiedene Analyten (DNA, Proteine, Enzyme etc.) in einer einzigen Probe gleichzeitig zu detektieren (Reslova et al. 2017). Dabei wird bei dem sogenannten Bead-basierenden Multiplex Assay das Verfahren der Mehrkanal-Durchfluss-Fluorometrie genutzt, um die verschiedenen Analyten zu bestimmen (Gressner und Arndt 2013). Das Multiplex-Verfahren ermöglicht eine schnellere, kostengünstigere und probensparendere Messung als bei vergleichbaren Methoden wie z.B. Elisa (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) (Radke et al. 2010).

Bei dem xMAP-Verfahren werden 5,6 µm große, sphärische Polystyrolpartikel (engl.: Beads, Kügelchen, Mikropartikel) eingesetzt. Diese sind mit zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen eingefärbt und emittieren durch Bestrahlung eines Lasers Licht in verschiedenen Bereichen des optischen Spektrums. Durch die Kombination dieser zwei Farbstoffe, die in zehn unterschiedlichen Konzentrationsstufen vorliegen, erhält man 100 verschiedene Fluoreszenzkodierungen, die jeden einzelnem Bead zugeordnet sind. Diese interne Farbkodierung ermöglicht die Identifizierung durch das Analysegerät und die gleichzeitige Messung verschiedener Analyte während eines Messdurchgangs (Gressner und Arndt 2013; Radke et al. 2010).

An die Oberfläche der Beads lassen sich durch eine Kopplungsreaktion (EDC-NHS Kopplung von Carboxylgruppen mit Aminogruppen) verschiedene Biomoleküle wie bspw. Antikörper, Antigene, Enzyme, DNA-Stränge, etc. anbringen und erlauben eine Vielzahl verschiedener Anwendungsmöglichkeiten (Reslova et al. 2017; Radke et al. 2010; Gressner und Arndt 2013). Die an den Beads angebrachten Biomoleküle binden das zu untersuchende Analyt - der Bead-Analyt-Komplex entsteht. Ein mit Fluoreszenzfarbstoff markiertes Nachweisreagenz wird zu dem Bead-Analyt-Komplex hinzugegeben und bindet ebenfalls am Analyt Bead-Analyt-Nachweisreagenz-Komplex. Dieses Nachweisreagenz unterscheidet sich vom emittierten Licht im spektralen Spektrum von dem der Beads (Radke et al. 2010; Reslova et al. 2017). Dies ermöglicht die Klassifizierung der Beads und die Quantifizierung des Analyts im selben

Messvorgang (Gressner und Arndt 2013). Die Messung erfolgt in einem 3-Kanal Durchflusszytometer, der mit zwei unterschiedlichen Lasern ausgerüstet ist. Ein roter Klassifikationslaser (635 nm) regt die intrinsischen Beadfarbstoffe an. Das emittierte Licht wird von einer Avalanche-Photodiode detektiert und aufgrund der spektralen Signatur kann der Bead dem definierten Analyt zugeordnet werden. Ein grüner Quantifikationslaser (525-532 nm) regt den Fluoreszentfarbstoff des Nachweisreagenz an. Dies wird von einem Photomultiplier detektiert, um zu erkennen, ob ein Analyt gebunden hat. Um Beadaggregate auszuschließen, wird das Seitenstreuchlicht von jedem Bead von einer Avalanche-Photodiode detektiert (Radke et al. 2010; Reslova et al. 2017). Dabei wird von dem Gerät die Mittlere Fluoreszenzintensität bestimmt (MFI). Das häufigste angewandte Assayformat ist das Sandwich-Assay, seltener werden kompetitive Formate verwendet (Radke et al. 2010).

2.3 Testdurchführung

Der Test wurde nach Angaben des Herstellers RnD-Systems, Inc. durchgeführt und mithilfe eines Luminex 200 der Firma Luminex Corporation gemessen. Das Assay-Format basiert auf einem Sandwichverfahren. Dabei werden zwei humane Antikörper verwendet, die gegen den gesuchten Biomarker gerichtet sind. Einer dieser Antikörper ist an dem Bead gebunden, der andere besitzt einen Biotinrest. In zwei Reaktionen binden diese an den gesuchten Biomarker. Durch eine dritte Reaktion wird an den Biotinrest Streptavidin gebunden. Dieses ist mit einem Fluoreszenzfarbstoff, dem Phycoerthrin, verbunden. Dies ermöglicht die Klassifizierung und die Quantifizierung des gesuchten Biomarkers.

Durch die Umgehung der direkten Bindung des Phycoerthrin an den Antikörper durch das Biotin wird verhindert, dass die immunlogische Reaktionsfähigkeit des Antiköpers beeinträchtigt wird. Die kovalente Bindung, die das Streptavidin mit dem Biotin eingeht, ist 10^3- bis 10^6-mal stärker als eine nicht-kovalente Bindung, bspw. die einer Antikörper-Antigen-Reaktion. Dadurch wird die Sensitivität und Spezifität des Assay erhöht (Gressner und Arndt 2013).

2.1.1. Material

Es wurden zwei verschiedene Kits von dem Hersteller RnD-Systems erworben. Mit Kit Nummer 1 wurden Procalcitonin und sFlt-1 bestimmt (Lot-Nummer: L122070). Mit Kit

Nummer 2 wurde CRP und CD14 bestimmt (Lot-Nummer: L122071). Die Kits wurden nach Herstellerangaben bei 2-8 °C gelagert.

In dem Kit waren folgende Bestandteile enthalten:

Tabelle 2: Bestandteile des verwendeten Luminex-Testkits

Humaner vorgemischter Bead-Antikörper-Cocktail	0,6 ml konzentrierte Bead-Mischung mit Konservierungsmittel
Humane vorgemischter Biotin-Antikörper Cocktail	0,6 ml konzentrierter biotinylierter Antikörper-Cocktail mit Konservierungsmittel
Streptavidin-Phycoerthrin-Konzentrat	0,07 ml konzentriertes Streptavidin-Phycoerthrin-Konjugat mit Konservierungsstoffen
Verdünnungsmittel RD2-1	11 ml gepufferte Proteinbasis mit Konservierungsstoffen
Verdünnungsmittel RD6-52	3 Fläschchen (21 ml/Fläschchen) gepufferte Proteinbasis mit Konservierungsstoffen
Waschpuffer-Konzentrat	21 ml einer 21-fach konzentrierten Mischung aus gepufferten Tensid mit Konservierungsstoffen
Mikrotiterplatte	96 Näpfchen-Platte (flach mit Filter)

2.1.1 Vorbereitung

Serumproben

Die tiefgefrorenen Serumproben wurden bei Zimmertemperatur aufgetaut. Dann wurden sie 5 min bei 13 000 UpM zentrifugiert, um eventuelle Verunreinigungen zu beseitigen und wie von dem Hersteller angegeben für das entsprechende Kit verdünnt.

Für das 1. Kit musste die verwendete Serumprobe 1:200 verdünnt werden. Hierfür wurde ein Teil Serum mit 199 Teilen RD6-52 Verdünnungsflüssigkeit versetzt und die gewünschte Menge für die jeweilige Messung erstellt.

Für das 2. Kit musste die verwendete Serumprobe 1:2 verdünnt werden. Hierfür wurde ein Teil Serum mit einem Teil RD6-52 Verdünnungsflüssigkeit versetzt und die gewünschte Menge für die Messung erstellt.

Waschpuffer und Standards

Waschpuffer und Standards wurden auf Zimmertemperatur erwärmt.

Um 500 ml Waschpuffer herzustellen, wurden 20 ml des Waschpufferkonzentrat mit 480 ml destilliertem Wasser vermischt.

Die Erstellung der Standardreihe erfolgte pro Kit und pro gesuchtem Biomarker. Hierfür wurden jeweils 100 µl der spezifischen Standard-Mischung, drei pro Kit, mit 700 µl Verdünnungsflüssigkeit RD6-52 vermengt und 1 000 µl Standard 1 erzeugt. Dieser Standard 1 enthielt für jedes Kit die zu untersuchenden Analyten.

Ausgehend von dem Standard 1 wurde eine 3-fache Verdünnungsreihe erstellt. Dabei wurden fünf Teströhrchen (2-6) mit jeweils 200 µl Verdünnungsflüssigkeit RD6-52 gefüllt. Von dem Standard 1 wurden je 100 µl in das nächste Teströhrchen überführt und gründlich gemischt. Die Konzentrationswerte für die verschiedenen Analyte waren von der Herstellerfirma vorgegeben.

Bead-Antikörper-Mischung (Cocktail)

Die Antikörper-Bead-Mischung wurde auf Zimmertemperatur erwärmt. Das Fläschchen wurde für 30 Sekunden bei 1 000 UpM zentrifugiert und anschließend kurz gevortext, um die Beads wieder zu resuspendieren. Danach wurde eine Verdünnung mit der Verdünnungsflüssigkeit RD2-1 nach Abbildung X durchgeführt, um die jeweilige benötigte Menge für die Mikrotiterplatte zu erhalten. Die Bead-Mischung sollte dabei vor Licht geschützt werden.

Biotin-Antikörper-Mischung

Die Biotin-Antikörper-Mischung wurde auf Zimmertemperatur erwärmt. Das Fläschchen wurde für 30 Sekunden bei 1 000 UpM zentrifugiert und anschließend kurz gevortext. Danach wurde eine Verdünnung mit der Verdünnungsflüssigkeit RD2-1 nach Abbildung X durchgeführt, um die jeweilige benötigte Menge für die Mikrotiterplatte zu erhalten.

Streptavidin-Phycoerthrin-Konzentrat

Das Streptavidin-Phycoerthrin-Konzentrat wurde auf Zimmertemperatur erwärmt. Das Fläschchen wurde für 30 Sekunden bei 1 000 UpM zentrifugiert und anschließend kurz gevortext. Die 100-fach konzentrierte Mischung wurde durch die Zugabe von 5,5 ml Waschpuffer auf 55 µl Streptavidin-PE auf eine 1fach Konzentration verdünnt. Dies reichte für eine 96 Näpfchen Mikrotiterplatte.

Luminex 200®- Einstellung

Die zu messenden Biomarker wurden nach Herstellerangaben einer Beadregion zugewiesen. Procalcitonin Beadregion: 21, CRP Beadregion: 38, CD14 Beadregion: 64, sFlt-1 Beadregion: 84.
Es wurden 50 Events/Bead gemessen, bei einer Durchflussrate von 60 µl/Minute. Die Probengröße wurde auf 50 µl festgelegt. Gate-Einstellung: 7 500-15 500.

2.1.2 Testverfahren

Zur Vorbereitung der mitgelieferten Mikrotiterplatte wurden jeweils 100 µl Waschpuffer in die Näpfchen gegeben, um den Filterboden zu benetzen. Die Flüssigkeit wurde mit einem Vakuum-Absauggerät entfernt. Von der vorbereiteten Bead-Mischung wurde jeweils 50 µl in die benötigten Näpfchen der Mikrotiterplatte gegeben. Danach wurden 50 µl Standard (1-6) sowie eine Blanko-Mischung (Verdünnungsflüssigkeit RD6-52) bzw. 50 µl Serumprobe in die Näpfchen hinzugegeben. Die Platte wurde mit einer Folie sicher vorschlossen und für 2 Stunden bei Raumtemperatur auf einem horizontalen Orbitalmikroplattenschüttler bei 500 ± 50 U/min inkubiert.

Nach der Inkubation wurde die Flüssigkeit mit dem Vakuum-Absauggerät entfernt. Die Näpfchen wurden mit 100 µl Waschpuffer befüllt und wieder abgesaugt. Dieser Waschvorgang wurde 3-mal wiederholt. Der Verlust von Beads wurde durch einen Filter in der Mikroplatte verhindert.

Weiter wurde die vorbereitete Biotin-Antikörper-Mischung in alle benutzten Näpfchen hinzugegeben. Die Mikrotiterplatte wurde mit einer Folie verschlossen und für 1 Stunde bei 500 ± U/min auf einem horizontalen Orbitalmikroplattenschüttler inkubiert.

Die Flüssigkeit wurde abgesaugt und 3-mal mit jeweils 100 µl Waschpuffer wie im vorherigen Waschschritt gewaschen. Nach dem Waschvorgang wurden 50 µl vorbereitetes Streptavidin-PE in die benutzten Näpfchen der Platte gegeben und für 30

Minuten bei 500 ± 50 U/min auf dem horizontalen Orbitalmikroplattenschüttler inkubiert.

Daraufhin wurde die Flüssigkeit erneut abgesaugt und mit 100 µl Waschpuffer in drei Waschgängen gewaschen. Durch Hinzugabe von 100 µl Waschpuffer wurde die Probe wieder resuspendiert und nochmals für 2 Minuten bei 500 ± 50 U/min inkubiert.

Die Platte wurde unverzüglich im voreingestellten Luminex 200® gemessen. Die Ergebnisse der Messung wurden als Exceltabelle von dem Luminex 200® ausgeben.

2.4 Statistik

Die statistischen Analysen erfolgten mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Version 26.0.0.0 für Microsoft Windows (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Die deskriptiven Daten wurden mittels absoluter und relativer Häufigkeit sowie Mittelwert, Median, Varianz, Standardabweichung, Minimum, Maximum und den Interquartilsabständen dargestellt. Die grafische Darstellung der Maße erfolgte mittels Boxplot-Diagramme.

Mit Hilfe von Kreuztabellen wurde die relative Häufigkeit der möglichen Einflussfaktoren auf die Entstehung der fetalen/neonatalen Alloimmunthrombozytopenie und der intrakraniellen Blutung (Geschlecht, andere Blutungen, Infektion, Thrombozyten-kategorien) geprüft.

Die Daten wurden mittels dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft. Dabei handelt sich um nicht-normalverteilte Daten.

Um den Zusammenhang zwischen einer intrakraniellen Blutung sowie der Erkrankungsausprägung mit der Thrombozytenzahl darzustellen, wurden die Daten dem Mann-Whitney-U-Test unterzogen.

Mit der Spearman Korrelation wurde anschließend der Zusammenhang zwischen der Thrombozytenzahl und den Inflammationsmarkern C-reaktives Protein, Procalcitonin, Soluble fms-like tyrosine kinase-1, Cluster-of-differention-14 ermittelt. Um einer Alphafehlerkumulierung entgegenzuwirken, wurde eine Bonferonie-Korrektur (4 Gruppen) durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Basischarakteristika des Patientenkollektivs

In dieser Studie bestand das Patientenkollektiv aus 100 Patienten (Alter: Neugeborene), aufgeteilt in zwei Gruppen aus je 50 Patienten. Die Gruppe „Non-FNAIT“ hatte mütterlicherseits keine nachgewiesenen HPA-1a-Antikörper und stellte somit die Kontrollgruppe dar. Die Gruppe „bestätigte FNAIT“ umfasste mütterlicherseits nachgewiesene HPA-1a-Antikörper und stellte somit die Erkrankungsgruppe dar.

Die Basischarakteristika der gesamten Kohorte sind in Tabelle 1 dargestellt. In den nachfolgenden Tabellen 2-4 sind die Charakteristika jeweils nach den Gruppen „Geschlecht“, „Erkrankungsausprägung“ sowie dem „Vorhandensein einer intrakraniellen Hämorrhagie (Blutung)“ aufgelistet. Es werden Geschlecht, Alter, Erkrankungsausprägung (bestätigte FNAIT/ Non-FNAIT), Vorhandensein einer intrakraniellen Blutung, weitere sonstige Blutungen, das Vorhandensein einer Infektion, die kindliche postnatale Thrombozytenzahl, sowie die in der Studie bestimmten Inflammationsmarker (C-reaktives Protein, Procalcitonin, Soluble fms-like tyrosine kinase-1, Cluster-of-differention-14) dargestellt.

Tabelle 3: Basischarakteristika des Patientenkollektivs

Kategorische[1] Daten werden als absolute und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische[2] als Mittelwerte ± SD, sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase-1

Charakteristika	**Patienten (n = 100)**
Männlich[1] (%)	72 (72)
Weiblich[1] (%)	28 (28)
Alter[2] (Jahre)	0 (± 0)
Gruppen	
Bestätigte-FNAIT[1] (%)	50 (50)
Non-FNAIT[1] (%)	50 (50)
Intrakranielle Hämorrhagien[1] (%)	12 (12)
Sonstige Blutung[1] (%)	25 (25)
Infektionen[1] (%)	12 (12)
Thrombozytenzahl[2] (/µl)	46430 (± 50428,5)
Inflammationsmarker	
C-Reaktives-Protein[2] (mg/l)	8,34 (± 31,48)

Procalcitonin[2] (µg/l)	1,34 (± 8,18)
sFlt-1[2] (pg/ml)	562,46 (± 457,59)
Cluster-of-differention-14[2] (µg/ml)	8,57 (± 7,38)

Tabelle 4: Charakteristika nach Geschlecht

Kategorische[1] Daten werden als absolute und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische[2] als Mittelwerte ± SD, sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase-1

Charakteristika	**Männlich (n = 72)**	**Weiblich (n = 28)**
Bestätigte-FNAIT[1] (%)	38 (68)	12 (32)
Non-FNAIT[1] (%)	34 (76)	16 (24)
Gruppen		
Intrakranielle Hämorrhagien[1] (%)	8 (67)	4 (33)
Sonstige Blutungen[1] (%)	19 (76)	6 (24)
Infektionen[1] (%)	9 (75)	3 (25)
Thrombozytenzahl[2] (/µl)	49778 (± 55338)	37821 (± 34132)
Inflammationsmarker		
C-Reaktives-Protein[2] (mg/l)	9,71 (± 37,04)	4,83 (± 3,07)
Procalcitonin[2] (µg/l)	0,54 (± 0,76)	3,40 (± 15,42)
sFlt-1[2] (pg/ml)	596,57 (± 483,99)	474,76 (± 375,10)
Cluster-of-differention-14[2] (µg/ml)	7,80 (± 4,33)	10,55 (± 12,03)

Tabelle 5: Charakteristika nach Erkrankungsgruppen

Kategorische[1] Daten werden als absolute und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische[2] als Mittelwerte ± SD, sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase-1

Charakteristika	**Bestätigte-FNAIT (n = 50)**	**Non-FNAIT (n = 50)**
Männlich[1] (%)	38 (53)	34 (47)
Weiblich[1] (%)	12 (43)	16 (57)
Gruppen		
Intrakranielle Hämorrhagien[1] (%)	11 (92)	1 (8)
Sonstige Blutungen[1] (%)	22 (88)	3 (12)
Infektionen[1] (%)	1 (8)	11 (92)

Thrombozytenzahl[2] (/µl)	32900 (± 33100,5)	59960 (± 60570,1)
Inflammationsmarker		
C-Reaktives-Protein[2] (mg/l)	12,39 (± 44,28)	4,30 (± 2,94)
Procalcitonin[2] (µg/l)	2,30 (± 11,54)	0,38 (± 0,26)
sFlt-1[2] (pg/ml)	648,05 (± 502,17)	476,87 (± 394,87)
Cluster-of-differention-14[2] (µg/ml)	8,93 (± 9,59)	8,22 (± 4,22)

Tabelle 6: Charakteristika nach intrakraniellen Hämorrhagien

Kategorische[1] Daten werden als absolute und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische[2] als Mittelwerte ± SD, sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase-1

Charakteristika	**Intrakranielle Blutung (n = 12)**	**Keine intrakranielle Blutung (n = 88)**
Männlich (%)	8 (11)	64 (73)
Weiblich (%)	4 (14)	24 (86)
Gruppen		
Bestätigte-FNAIT[1] (%)	11 (22)	39 (78)
Non-FNAIT[1] (%)	1 (2)	49 (98)
Sonstige Blutungen (%)	7 (28)	18 (72)
Infektionen (%)	1 (8)	11 (92)
Thrombozytenzahl[2] (/µl)	19417 (± 19237,6)	50114 (± 52274,6)
Inflammationsmarker		
C-Reaktives-Protein[2] (mg/l)	4,29 (± 2,92)	8,90 (± 33,53)
Procalcitonin[2] (µg/l)	7,34 (± 23,53)	0,52 (± 0,69)
sFlt-1[2] (pg/ml)	651,64 (± 383,24)	550,30 (± 467,39)
Cluster-of-differention-14[2] (µg/ml)	9,21 (± 6,83)	8,49 (± 7,48)

3.2 Korrelation zwischen der Erkrankungsausprägung und den gemessenen Inflammationsmarkern

Es wurde geprüft, ob Korrelationen zwischen der Erkrankungsausprägung (bestätigte FNAIT vs. Non-FNAIT) und den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml) vorlagen.

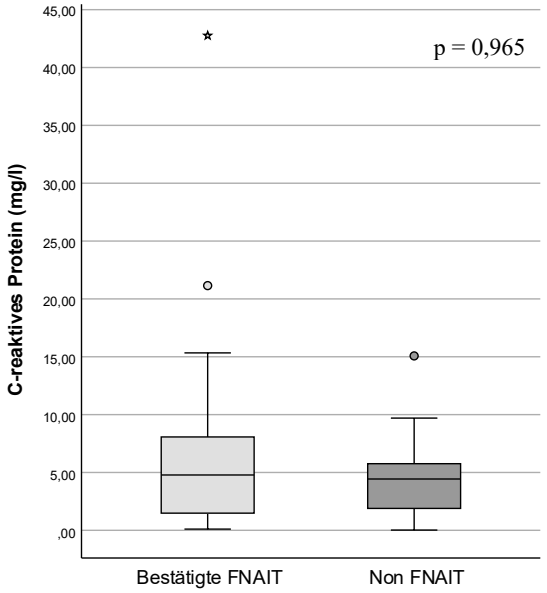
Es konnte keine signifikante Korrelation (p=0,965) zwischen der CRP-Konzentration und der Erkrankungsausprägung festgestellt werden. („Non FNAIT“ (n = 50; mediane CRP-Konzentration: 4,44 [25 %-75 %- Perzentile: 1,86/ 5,76]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte FNAIT“ (n = 50; mediane CRP-Konzentration: 4,78 [25 %-75 %- Perzentile: 1,48/ 8,25])).

Es konnte keine signifikante Korrelation (p=0,133) zwischen der Procalcitonin-Konzentration und der Erkrankungsausprägung festgestellt werden. („Non FNAIT“ (n = 50; mediane Procalcitonin-Konzentration: 0,32 [25 %-75 %- Perzentile: 0,18/ 0,48]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte FNAIT“ (n = 50; mediane Procalcitonin -Konzentration: 0,36 [25 %-75 %- Perzentile: 0,26 / 0,79]))

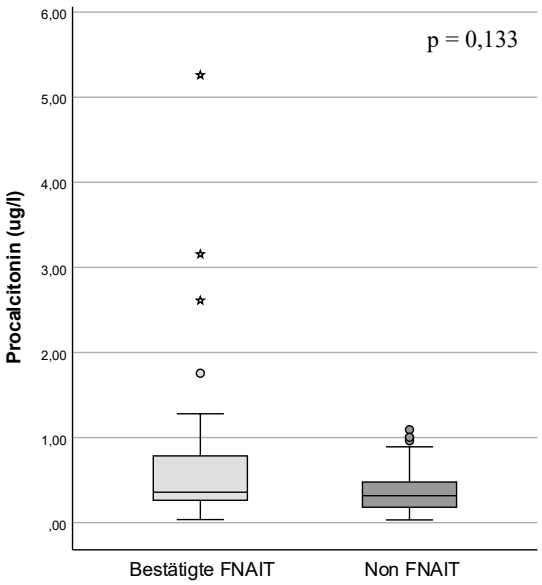
Es konnte keine signifikante Korrelation (p=0,243) zwischen der sFlt-1-Konzentration und der Erkrankungsausprägung festgestellt werden. („Non FNAIT“ (n = 50; mediane sFlt-1-Konzentration: 401,79 [25 %-75 %- Perzentile: 276,98/ 474,41]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte FNAIT“ (n = 50; mediane sFlt-1-Konzentration: 454,50 [25 %-75 %- Perzentile: 324,49/ 744,74]))

Es konnte keine signifikante Korrelation (p=0,427) zwischen der Cluster-of-differention-14 -Konzentration und der Erkrankungsausprägung festgestellt werden. („Non FNAIT“ (n = 50; mediane CD14-Konzentration: 8,18 [25 %-75 %- Perzentile: 5,98/ 9,66]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte FNAIT“ (n = 50; mediane CD14-Konzentration: 6,44 [25 %-75 %- Perzentile: 5,36/ 8,55]))

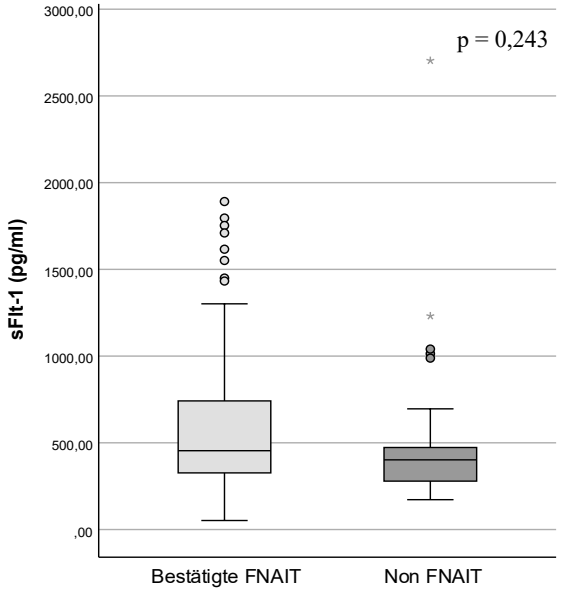
Abbildung 1 stellt die Ergebnisse graphisch dar.



Zur übersichtlichen Darstellung wurde der Wert „X-Achse: Bestätige FNAIT; Y-Achse: CRP 315,43 mg/l“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.



Zur übersichtlichen Darstellung wurde der Wert „X-Achse: Bestätige FNAIT; Y-Achse: Procalcitonin 82,05 µ/l “ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.



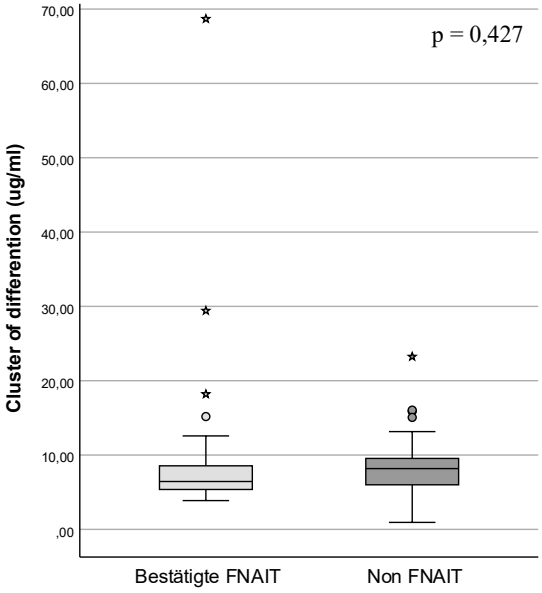


Abbildung 2: Korrelationen zwischen der Erkrankungsausprägung (bestätigte FNAIT vs. Non-FNAIT) mit den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml) sowie der kindlichen Thrombozytenzahl (/µl).

3.3 Korrelation zwischen dem Auftreten einer intrakraniellen Hämorrhagie und den gemessenen Inflammationsmarkern

Es wurde geprüft, ob Korrelationen zwischen einer intrakraniellen Hämorrhagie und den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml) vorlagen.

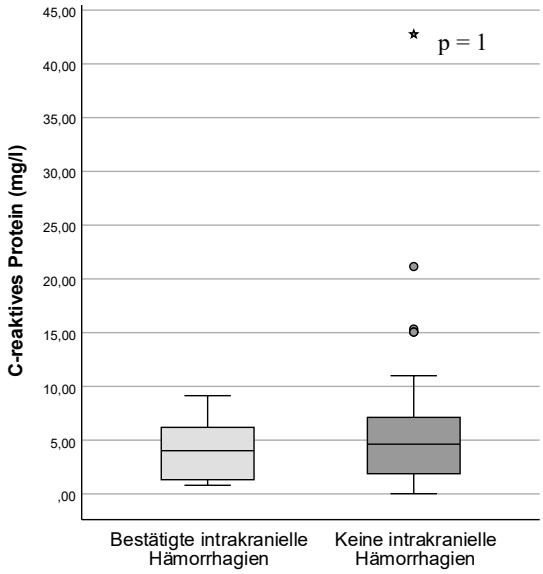
Es konnte keine signifikante Korrelation (p=1) zwischen der CRP-Konzentration und einer intrakraniellen Hämorrhagie festgestellt werden. („Non ICH“ (n = 88; mediane CRP-Konzentration: 7,45 [25 %-75 %- Perzentile: 5,72 / 9,42]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte ICH“ (n = 12; mediane CRP-Konzentration: 6,71 [25 %-75 %- Perzentile: 5,46 / 9,97])).

Es konnte keine signifikante Korrelation (p=1) zwischen der Procalcitonin-Konzentration und einer intrakraniellen Hämorrhagie festgestellt werden. („Non ICH“ (n = 88; mediane Procalcitonin-Konzentration: 0,33 [25 %-75 %- Perzentile: 0,22 / 0,56]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte ICH“ (n = 12; mediane Procalcitonin -Konzentration: 0,32 [25 %-75 %- Perzentile: 0,23 / 0,32]))

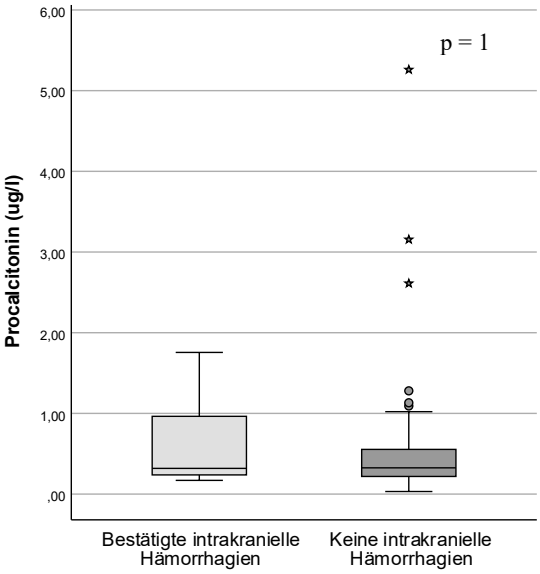
Es konnte keine signifikante Korrelation (p=0,461) zwischen der sFlt-1-Konzentration und einer intrakraniellen Hämorrhagie festgestellt werden. („Non ICH“ (n = 88; mediane sFlt-1-Konzentration: 410,28 [25 %-75 %- Perzentile: 280,01 / 586,18]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte ICH“ (n = 12; mediane sFlt-1-Konzentration: 496,21 [25 %-75 %- Perzentile: 376,88 / 912,54]))

Es konnte keine signifikante Korrelation (p=1) zwischen der Cluster-of-differention-14 -Konzentration und einer intrakraniellen Hämorrhagie festgestellt werden. („Non ICH“ (n = 88; mediane CD14-Konzentration: 7,45 [25 %-75 %- Perzentile: 5,72 / 9,42]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte ICH“ (n = 88; mediane CD14-Konzentration: 6,71 [25 %-75 %- Perzentile: 5,46 / 9,97]))

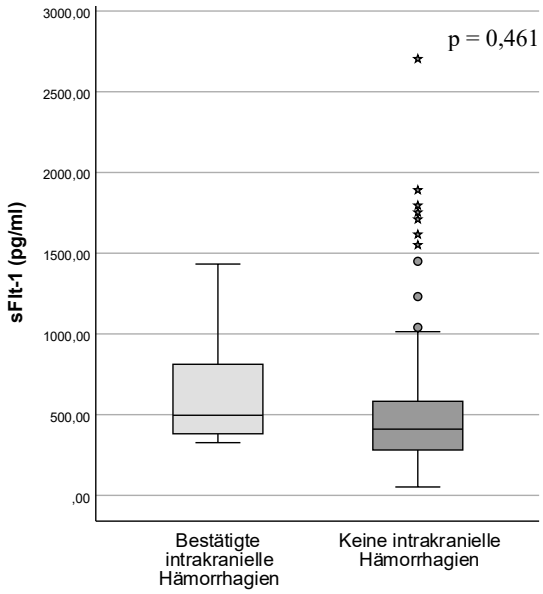
Abbildung 2 stellt die Ergebnisse graphisch dar.



Zur übersichtlichen Darstellung wurde der Wert „X-Achse: Keine intrakranielle Hämorrhagie; Y-Achse: CRP 315,43 mg/l“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.



Zur übersichtlichen Darstellung wurde der Wert „X-Achse: Bestätige intrakranielle Hämorrhagie; Y-Achse: Procalcitonin 82,05 µ/l “ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.



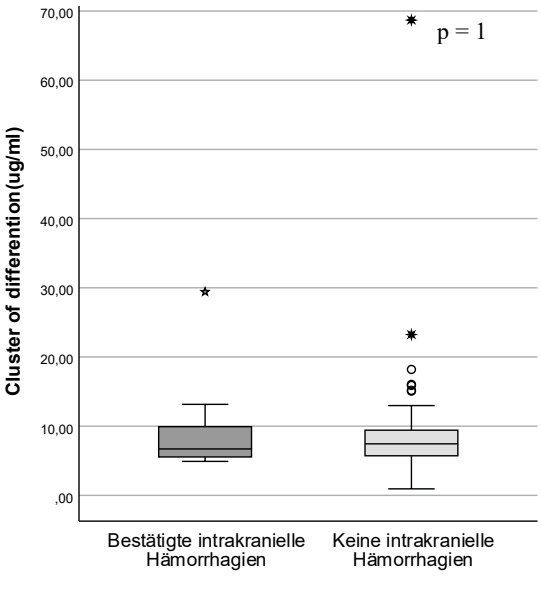


Abbildung 3: Vergleich zwischen einer intrakraniellen Hämorrhagie (bestätigte intrakranielle Hämorrhagie (n=12); keine intrakranielle Hämorrhagie (n=88)) und den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml).

3.4 Korrelation zwischen der Erkrankungsausprägung/ einer intrakraniellen Hämorrhagie und den kindlichen Thrombozyten (/µl)

Es wurde geprüft, ob Korrelationen zwischen der Erkrankungsausprägung sowie einer intrakraniellen Blutung und der kindlichen Thrombozytenzahl (/µl) vorlagen.

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang (p=0,0003) zwischen einer erniedrigten postnatalen Thrombozytenzahl und der Erkrankungsausprägung. („Non FNAIT“ (n = 50; mediane Thrombozytenzahl: 45 000 [25 %-75 %- Perzentile: 27 750/ 72 250]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte FNAIT“ (n = 50; mediane Thrombozytenzahl: 20 000 [25 %-75 %- Perzentile: 10 500 / 42 250]))

Desweitern war ein signifikanter Zusammenhang (p=0,0102) zwischen einer erniedrigten postnatalen Thrombozytenzahl und einer intrakraniellen Blutung feststellbar. („Non ICH“ (n = 88; mediane Thrombozytenzahl: 37 500 [25 %-75 %- Perzentile: 18 500/ 67 750]) verglichen mit der Gruppe „bestätigte ICH“ (n = 12; mediane Thrombozytenzahl: 12 000 [25 %-75 %- Perzentile: 6 250/ 27 500]))

Abbildung 3 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

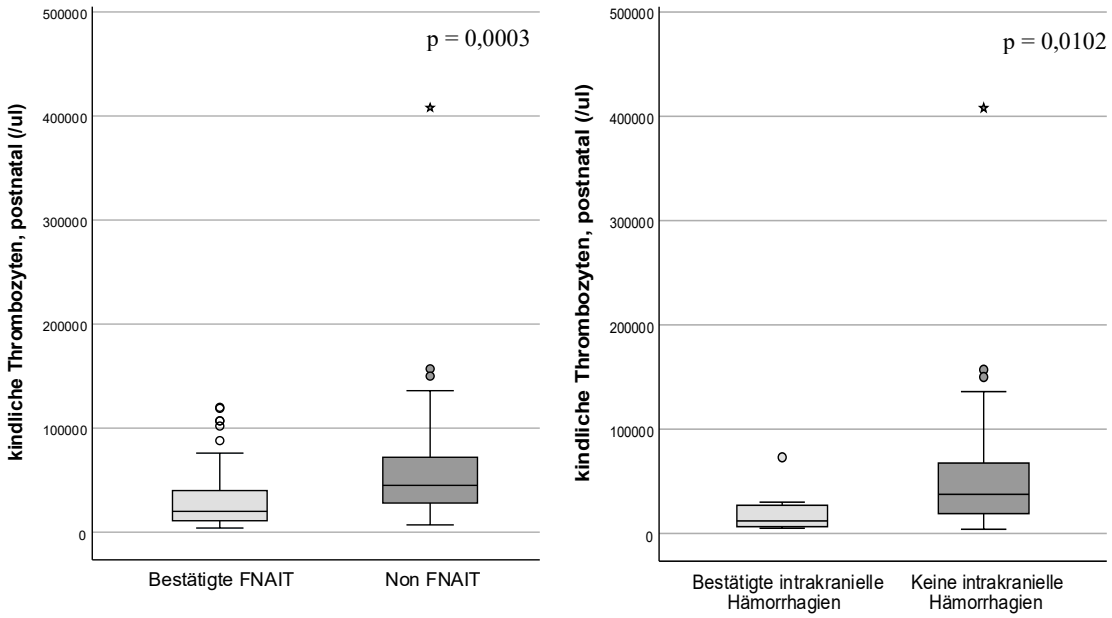


Abbildung 4: Vergleich zwischen der Erkrankungsausprägung sowie einer intrakraniellen Blutung und der kindlichen Thrombozytenzahl (/µl)

3.5 Einfluss der Inflammationsmarker auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung

3.5.1 Einfluss der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)

Es wurde geprüft, ob eine Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)) vorlag.

Es konnte keine signifikante Korrelation (p=1; r_s=0,067) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der CRP-Konzentration in der Gesamtkohorte (n=100) festgestellt werden. Weiter zeigte sich ebenfalls keine signifikante Korrelation (p=0,877; r_s=0,177) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) in der Gruppe „bestätigte FNAIT“ sowie keine signifikante Korrelation (p=1; r_s= 0,004) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl und C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) in der Gruppe „non FNAIT“. Abbildung 4 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

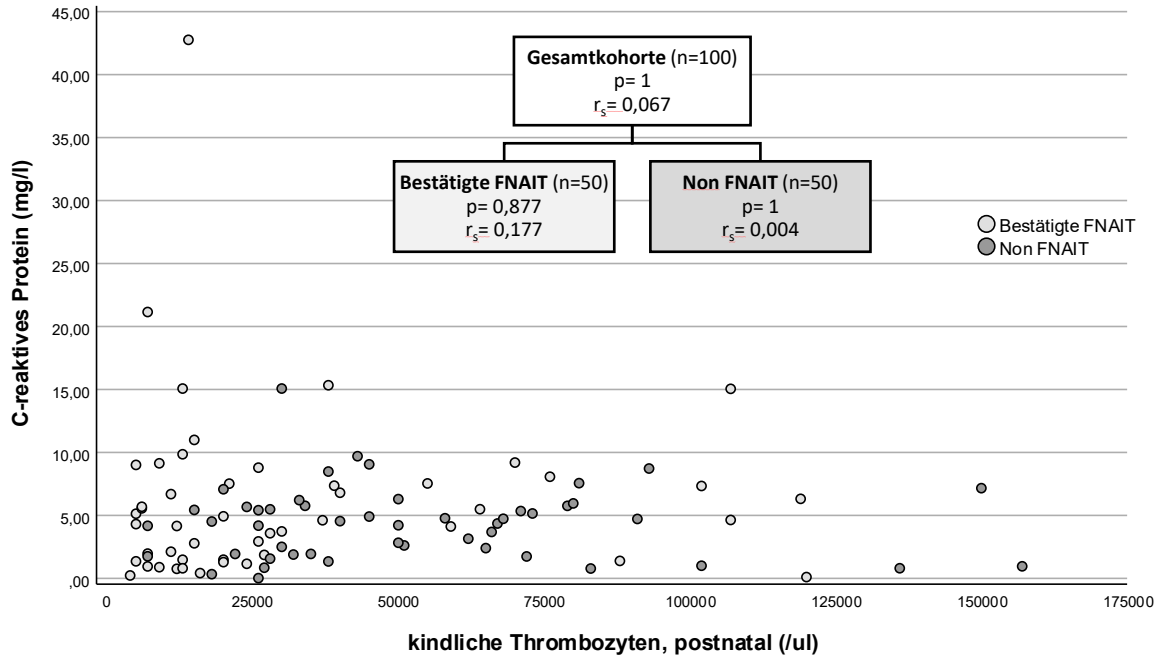


Abbildung 5:Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung. (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)).

Zur übersichtlichen Darstellung wurden die Werte: „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 49 000 /µl; Y-Achse: CRP 315,43 mg/l“; „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 408 000 /µl; Y-Achse: CRP 0,38 mg/l“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.

3.5.2 Einfluss der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)

Es wurde geprüft, ob eine Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)) vorlag.

Es konnte eine signifikante negative Korrelation (p=0,0000315; r_s=-0,430) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in der Gesamtkohorte (n=100) festgestellt werden. Weiter zeigte sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelation (p= 0,042; r_s= -0,359) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in der Gruppe „bestätigte FNAIT“ sowie eine signifikante negative Korrelation (p= 0,024; r_s= -0,384) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in der Gruppe „non FNAIT“. Abbildung 5 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

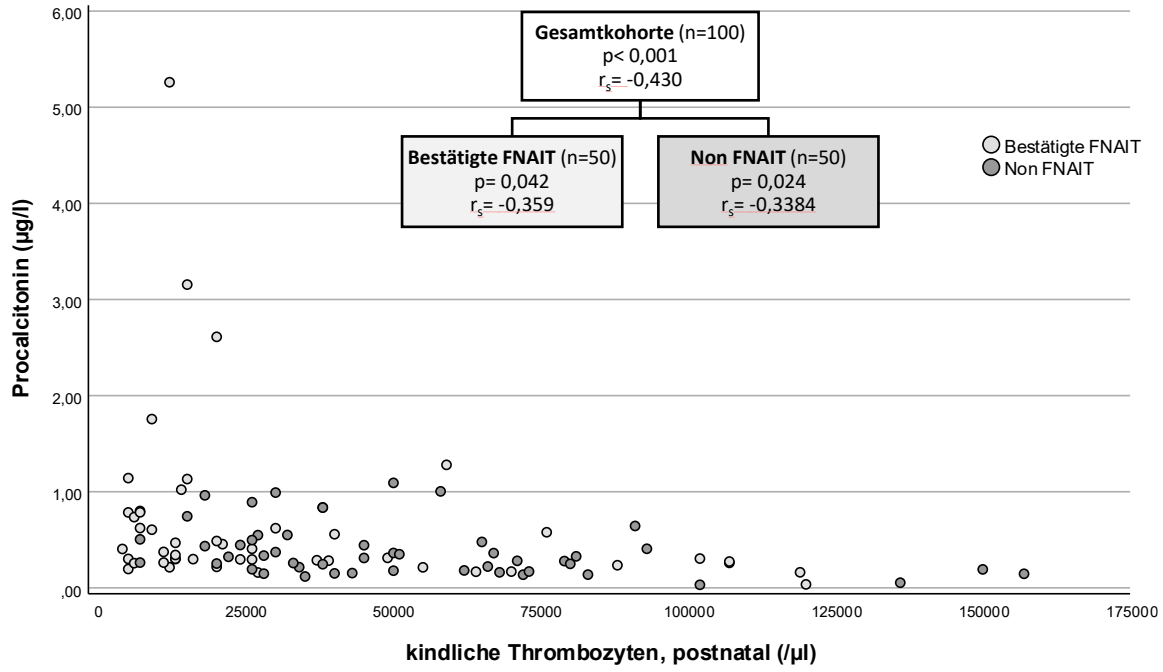


Abbildung 6: Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)).

Zur übersichtlichen Darstellung wurden die Werte: „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 28000 /µl ; Y-Achse: Procalcitonin 82,05 µg/l“; „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 408 000 /µl; Y-Achse: Procalcitonin 0,42 µg/l“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.

3.5.3 Einfluss der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)

Es wurde geprüft, ob eine Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)) vorlag.

Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation (p= 0,0016; r_s= -0,347) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in der Gesamtkohorte (n=100). Weiter zeigte sich ebenfalls eine signifikante negative Korrelation (p= 0,021; r_s= -0,388) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in der Gruppe „bestätigte FNAIT“.

Jedoch zeigte sich keine signifikante Korrelation (p= 1; r_s= -0,065) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in der Gruppe „non FNAIT“. Abbildung 6 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

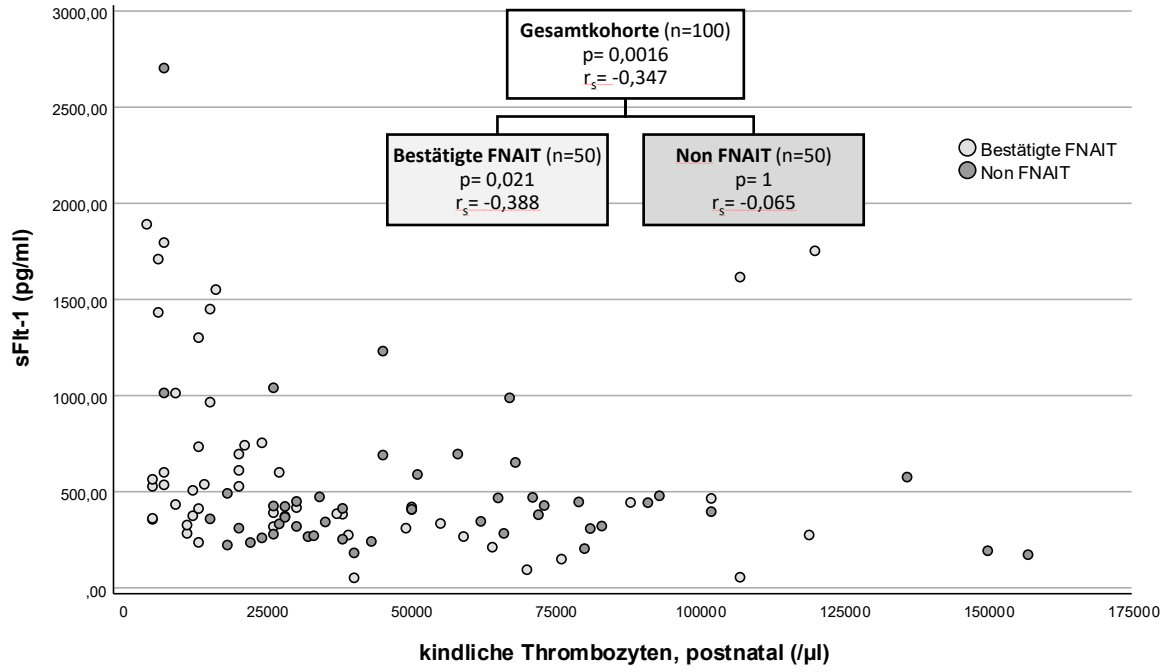


Abbildung 7: Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)).

Zur übersichtlichen Darstellung wurden die Werte: „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 408 000 /µl; Y-Achse: sFlt-1: 172,10 pg/ml“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.

3.5.4 Einfluss der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) auf die postnatale Thrombozytenzahl (/µl)

Es wurde geprüft, ob eine Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)) vorlag.

Es konnte keine signifikante Korrelation (p= 0,352; r_s= 0,171) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) in der Gesamtkohorte (n=100) festgestellt werden. Weiter zeigte sich ebenfalls keine signifikante Korrelation (p= 1; r_s= 0,117) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) in der Gruppe „bestätigte FNAIT“ sowie keine signifikante Korrelation (p= 1; r_s= 0,082) zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl und der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) in der Gruppe „non FNAIT“. Abbildung 6 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

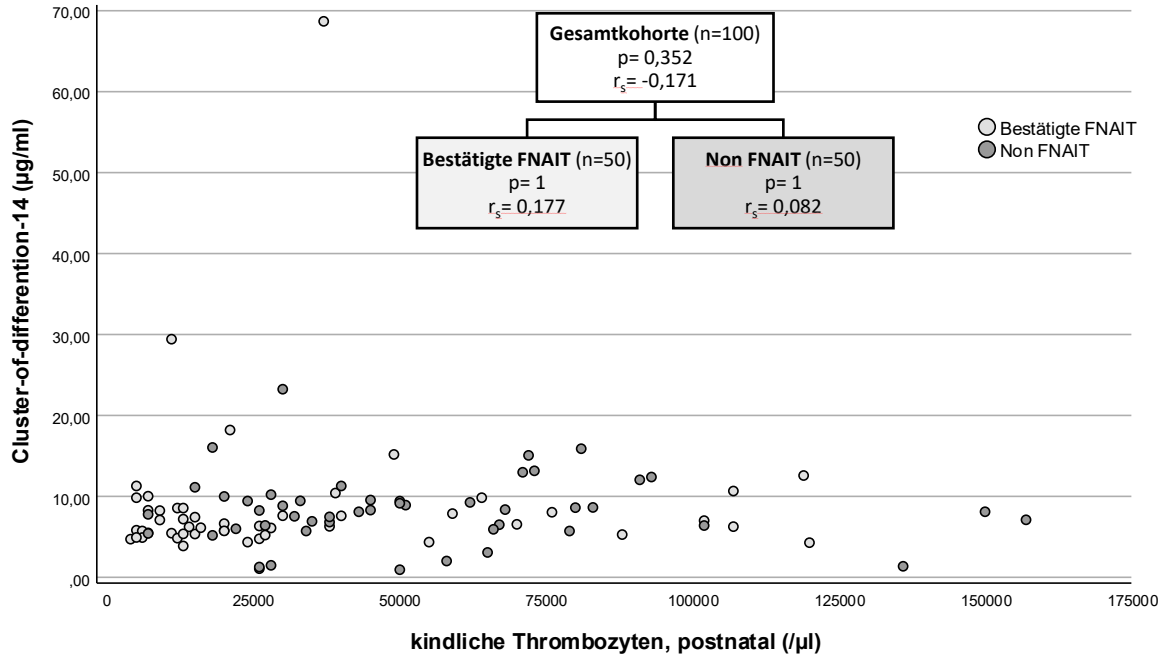


Abbildung 7: Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Cluster-of-differention-14-Konzentration (µg/ml) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)). Zur übersichtlichen Darstellung wurden die Werte: „X-Achse: kindliche Thrombozyten: 408 000 /µl; Y-Achse: sFlt-1: 7,27 µg/ml“ in dieser Abbildung graphisch nicht dargestellt.

4. Diskussion

Das Ziel derzeitiger Forschungen im Bereich der fetalen und neonatalen Alloimmunthrombzytopenie ist es, den Pathomechanismus der Erkrankung besser zu verstehen, um hieraus Modelle für eine frühzeitige, gezielte und kostengünstige Therapie sowie Screening-Untersuchungen zu entwickeln. Dabei ist es notwendig, nachzuvollziehen, weshalb die Erkrankung in ihrer Ausprägung und Schwere deutlich variiert. Obwohl es sich um eine seltene Erkrankung handelt, ist das Trauma, ein Kind zu verlieren ein katastrophaler Einschnitt im Leben werdender Eltern. Die vorliegende Arbeit dient dem Zweck, die Datenlage zu erweitern und als Baustein für künftige Forschungen auf diesem Gebiet zu dienen. Nach dem jetzigen Wissensstand ist dies die erste Studie, die eine Entzündungsreaktion in Kindern mit einer fetalen und neonatalen Alloimmunthrombozytopenie untersucht. Dabei konzentriert sich diese Arbeit auf vier Entzündungswerte: C-reaktives Protein, Procalcitonin, Cluster of Differentiation-14 (sCD-14) und sFlt-1.

4.1 Beeinflusst eine systemische Entzündung die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie?

Eine Arbeitsgruppe um Kapur et al. (2015) stellte die Hypothese auf, dass CRP als Co-Faktor einer IgG-induzierten Phagozytose von Thrombozyten diene und somit eine Thrombozytopenie verstärke. Dies basiere auf einer durch HPA-1a-Antikörper induzierten oxidativen Schädigung der Thrombozytenmembran mit Freilegung von CRP-Bindungsstellung und nachfolgender Opsonierung sowie Abbau dieser. Ihren Ergebnissen nach könnte CRP ein wichtiger Biomarker für das Schweregrad-Monitoring einer IgG-induzierten Thrombozytopenie darstellen. Hierfür untersuchten Kapur et al. (2015) die CRP-Konzentration im Serum von 71 Kindern mit einer neu diagnostizierten Immunthrombozytopenie (ITP) und 21 Kindern mit einer neu diagnostizierten FNAIT. Es zeigte sich eine signifikant erhöhte CRP-Konzentration in beiden Krankheitsgruppen im Vergleich zu gesunden Kindern. Eine Korrelation mit schweren Blutungsereignissen im Rahmen einer FNAIT konnte aber nicht nachgewiesen werden (Kapur et al. 2015).

Diese Ergebnisse konnten wir in unserer FNAIT-Kohorte (n=50) nicht reproduzieren. Es zeigt sich kein Zusammenhang zwischen der CRP-Konzentration und der Erkrankungsausprägung „FNAIT“ im Vergleich zu unserer Kontroll-Kohorte „Non-FNAIT“ (n=50) (p=0,965). Dabei zeigen sich aber in beiden Gruppen eine relativ hohe

mediane CRP-Konzentration (Non-FNAIT: 4,44 mg/l vs. FNAIT: 4,78 mg/l). Laut (Bellieni et al. 2014) sollte die mediane CRP-Plasmakonzentration in gesunden Neugeborenen 12 Stunden nach Geburt 0,5 mg/l (0,01–4,6) und nach 24 Stunden 1,7 mg/dl (0,2–15,4) betragen. Dabei ist kritisch zu sehen, dass CRP durch eine Vielzahl externer Faktoren beeinflusst wird. Dazu zählen die Länge des Blasensprungs, Geburtsdauer, intrapartale Antibiotikatherapie, vorgeburtliche Steroidtherapie, mütterliches Fieber/Infektion, die Höhe des Geburtsgewichts und das Gestationsalter (Tiozzo und Mukhopadhyay 2022; Chiesa et al. 2003; Eschborn und Weitkamp 2019). Diese Faktoren in einer Studie optimal zu kontrollieren, ist kompliziert, da das Kindeswohl an erster Stelle steht und bei Verdacht einer lebensgefährdenden Erkrankung sofort therapeutische Maßnahmen ergriffen werden müssen. Die ergriffenen Maßnahmen und dem Kind hierdurch zugefügten Stress führen dabei unumgänglich zur Erhöhung der CRP-Konzentration (Tiozzo und Mukhopadhyay 2022). Dies führt zu einer niedrigen Spezifität von CRP in der FNAIT-Diagnostik. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse und dem starken Einfluss externer Faktoren ist CRP kein geeigneter Surrogatparameter für die FNAIT und für eine Prognoseeinschätzung der Erkrankung ungeeignet.

Auch für die weiteren Entzündungsmarker Procalcitonin (p=1), sFlt-1 (p=0,461) und sCD-14 (p=1) konnte kein Zusammenhang mit der Erkrankungsausprägung festgestellt werden. Dabei wird die Procalcitonin-Konzentration des Neugeborenen, ähnlich wie CRP, durch das Geburtsgewicht, das Gestationsalter und die Dauer des Blasensprungs beeinflusst (Eschborn und Weitkamp 2019; Turner et al. 2006). PCT wird ubiquitär als Reaktion auf Endotoxine oder Entzündungsmediatoren sekretiert und korreliert mit dem Schweregrad bakterieller Infektionen (Reinhart et al. 2012; Gogos et al. 2000). Im Gegensatz zu CRP zeigt PCT eine negative Korrelation mit der Thrombozytenzahl bei allen untersuchten Neugeborenen. Ein signifikanter Unterschied der PCT-Konzentrationen zwischen der FNAIT- und der Kontroll-Gruppe war jedoch nicht nachweisbar. Für die beobachtete Korrelation zwischen PCT und der Thrombozytenzahl existieren zwei mögliche Erklärungen: Entweder beeinflusst die reduzierte Thrombozytenmasse die Konzentration messbarer PCT im Serum direkt oder PCT spiegelt eine unspezifische inflammatorische Aktivität wider, die unabhängig vom spezifischen Auslöser (immunologisch oder infektiös) eine Rolle in der Regulation der Thrombozytenzahl spielt.

Lösliches CD14 gilt als allgemeiner Marker für die Monozyten-/Makrophagenaktivierung und ist auch ein nützlicher Marker für Sepsis bei Neugeborenen (van Maldeghem et al. 2019). Die gemessene mediane sCD-14-Konzentration in der FNAIT (8,18 µg/ml) sowie in der Kontrollgruppe (6,44 µg/ml) liegen deutlich über den bei Martinez et al. 2014 0,32 µg/ml) und Berner et al. 2002 (0,28 µg/ml) gemessenen Werten der gesunden Neugeborenen. Wir hatten einen möglichen Anstieg der sCD14-Werte bei der FNAIT im Vergleich zur Kontrollgruppe erwartet, da antikörperbeladene Thrombozyten in der Regel durch Phagozytose, aus dem Kreislauf entfernt werden und dies mit einer Aktivierung der Monozyten/Makrophagen einhergeht. Hierfür lieferten unsere Daten aber keine Hinweise. Es zeigte sich signfikante Korrelation zwischen den sCD-14-Werten und der Thrombozytenzahlen in beiden Kohorten.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse gegen eine relevante Beteiligung systemischer Inflammationsprozesse an der Ausprägung der Thrombozytopenie bei FNAIT. Ein methodischer Unterschied zu Kapur et al. (2015) besteht darin, dass in unserer Studie keine gesunde Kontrollgruppe untersucht wurde, sondern eine thrombopenische Kohorte ohne Nachweis mütterlicher HPA-Antikörper. Dies muss bei der Interpretation der Ergebnisse kritisch berücksichtigt werden, da eine mögliche Verzerrung durch nicht vollständig kontrollierbare perinatale Faktoren oder unerkannte Infektionen nicht ausgeschlossen werden kann. Zusätzlich erfolgte die Anpassung der jeweiligen Proben der Kontrollgruppe an die FNAIT-Gruppe nach Alter der Probe (2000–2015). Dabei fehlten vor allem in älteren Proben klinische Angaben der Probanden. Eine tatsächliche gesunde Kontrollgruppe ist somit kritisch zu hinterfragen.

Zudem handelt es sich bei der FNAIT um eine seltene Erkrankung. Dies spiegelt sich in einer nur begrenzten Anzahl an vorhandenen Erkrankungsfällen wider, die in eine Studie eingeschlossen werden können, und führt zu einer kleinen Kohorte mit geschwächter Aussagekraft der Ergebnisse. Dahingehend sind weitere prospektive Untersuchungen mit größeren Fallzahlen nötig, um die erhobenen Ergebnisse zu verifizieren.

4.2 Die systemische Entzündung als Teil des Pathomechanismus einer intrakraniellen Blutung?

Vorrangegangene Studien bei erwachsenen Patienten mit spontanen intrakraniellen Blutungen zeigten im Verlauf über 72 Stunden erhöhte CRP-Konzentrationen im Blut

sowie in der hämorrhagischen Läsion selbst (Di Napoli et al. 2012). Dabei konnte über die CRP-Plasmakonzentration die Größe des entstehenden Hämatoms vorhergesagt und als Indikator für das Outcome genutzt werden (Di Napoli et al. 2014). Basierend auf diesen Studien versuchte Kapur et. al diese Ergebnisse in der vorhandenen FNAIT-Kohorte zu reproduzieren. Dabei stellte sich aber kein Zusammenhang zwischen einer CRP-Konzentration und dem Auftreten einer intrakraniellen Blutung dar (Kapur et al. 2015).

Dieses Ergebnis konnte durch die vorliegende Arbeit unterstützt werden. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen einer intrakraniellen Blutung und den gemessenen Entzündungsmarkern festgestellt werden (CRP (p=1); PCT (p=1); sFlt-1 (p=0,461); sCD-14 (p=1)). Wie auch Kapur et. al in seiner Kohorte kritisch anmerkte, ist die Kohorte mit einer intrakraniellen Blutung in dieser Studie sehr klein (n=11). Auf der Basis dieser kleinen Kohorte eine qualitativ hochwertige Aussage zu erzeugen, muss kritisch betrachtet werden. Bei einer Inzidenz von 1:10 000 eine intrakranielle Blutung im Rahmen einer FNAIT zu entwickeln (Winkelhorst et al. 2020), treten bei 795 000 Neugeborenen (Stand 2021) in Deutschland (Statistisches Bundesamt 2019) ca. 80 Fällen pro Jahr in der gesamten deutschen Population auf. Diese Fälle müssen von dem behandelnden Pädiater erkannt und einer FNAIT zugeordnet werden, was zu einer Reduktion der eingeschlossenen Fälle führen kann. Zudem unterliegen CRP und PCT einer starken Beeinflussung verschiedener externer Faktoren. Man muss davon ausgehen, dass diese Marker hierdurch keine ausreichende Spezifität für das Erkennen einer intrakraniellen Blutung oder einer Prognose-Einschätzung aufweisen.

Die Entstehung von einer intrakraniellen Blutung im Rahmen einer FNAIT unterliegt am ehesten einem synergetischen Effekt zwischen einer antikörpervermittelten Beeinträchtigung der Angiogenese und einer bestehenden Thrombozytopenie. Dabei konnte keine zytotoxische Wirkung auf die Endothelzellen beobachtet werden, sondern es zeigte sich eine verringerte Dichte und Apoptose von proliferierenden Endothelzellen sowie eine Abnahme von angiogenetischen Faktoren (VEGF, FGF-acid, MMP-8, Endothelin-1) (Yougbaré et al. 2015). Weiter zeigte sich in einer Studie zu subarachnoidal Blutungen ein Zusammenhang zwischen der sFlt-1-Konzentration und dem Auftreten von Vasospasmen (Griessenauer et al. 2017). sFlt-1 hat die Aufgabe, das Wachstum und die Apoptose von vaskulären Endothelzellen zu modulieren (Failla et al. 2018).

Ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten sFlt-1-Plasmakonzentration und dem Auftreten einer intrakraniellen Blutung konnte in der FNAIT-Kohorte aber nicht nachgewiesen werden. Dies könnte an einer zusätzlichen Beeinflussung der sFlt-1-Konzentration durch eine plazentare Entzündung liegen, die im Rahmen einer FNAIT auftreten kann (Althaus et al. 2005).

In der Zusammenschau der Ergebnisse sind die vorliegenden Entzündungsmarker ohne Nutzen als Surrogatparameter für eine FNAIT-induzierte intrakranielle Blutung einzuordnen. Weiter scheinen diese ebenfalls als Indikator für eine Prognoseeinschätzung einer intrakraniellen Blutung nicht geeignet zu sein. Auch in diesem Fall sind weitere Studien mit größeren Fallzahlen von Nöten, um die erhobenen Ergebnisse zu bestätigen.

4.3 Zusammenhang zwischen Inflammationsmarkern und der postnatalen Thrombozytenzahl

Nach der aktuellen Studienlage ist anzunehmen, dass der Schweregrad der Thrombozytopenie bei einer FNAIT durch die Höhe der HPA-1a-Antikörper-Konzentration beeinflusst wird. Es zeigt sich bei Frauen mit dem Risikoallel DRB3*01:01 eine deutlich höhere HPA-1a- Antikörperkonzentration und somit bei den betroffenen Kindern signifikant häufiger schwere Thrombozytopenien. Dabei ist unklar, inwieweit die HPA-1a-Antikörper-Konzentration zur Risikostratifizierung tatsächlich genutzt werden kann. Diese Diskussion unterliegt dem wissenschaftlichen Diskurs (Kjeldsen-Kragh und Bengtsson 2020; Killie et al. 2008). Zudem existieren auch widersprüchliche Studien, die keinen Zusammenhang zwischen einer HPA-1a-Antikörper-Konzentration mit dem Risikoallel DRB3*01:01, der Thrombozytenkonzentration oder dem Auftreten einer intrakraniellen Blutung sehen (Wienzek-Lischka et al. 2017). Einen anderen Ansatz verfolgte die Arbeitsgruppe um Kapur et. al, die den Verdacht stellte, dass CRP als Co-Faktor einer IgG-induzierten Phagozytose von Thrombozyten diene und somit eine Thrombozytopenie verstärke (Kapur et al. 2015).

In der vorliegenden Arbeit konnten die Ergebnisse von Kapur et. al nicht reproduziert werden. Es zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen der Thrombozytenzahl und der gemessenen CRP-Konzentration in der Gesamt-Kohorte (p=1), in der FNAIT-Kohorte (p=0,877) oder in der Kontroll-Kohorte (p=1). Dieses Ergebnis deckt sich mit

der fehlenden Korrelation zur allgemeinen Erkrankungsausprägung und unterliegt auch den bereits diskutierten Schwächen dieser Studie.

Auch für den in der Sepsis-Diagnostik genutzten Marker sCD-14 zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen der Thrombozytenzahl und der sCD-14-Konzentration in der Gesamt-Kohorte (p= 0,352), in der FNAIT-Kohorte (p=1) oder in der Kontroll-Kohorte (p=1). sCD-14 dient zur Erkennung und Bindung bakterieller Lipopolysaccharide im Rahmen der angeborenen Immunantwort (Zanoni und Granucci 2013). Weiter ist es auch beteiligt an der Erkennung von DAMPs (damage-associated molecular patterns). Diese treten bei Zellschädigung auf und bestehen aus Zellmembranbruchstücken (Zanoni et al. 2017). Da es aber im Rahmen der FNAIT zu geordneter Antikörper-assoziierter Phagozytose in der Milz des Neugeboren kommt (McMillan et al. 1974) und keine großflächigen Zellschäden auftreten, auch nicht im Rahmen von Hirnblutungen (Yougbaré et al. 2015), ist der Einfluss von sCD-14 in der Pathogenese der FNAIT wahrscheinlich zu vernachlässigen. Dies spiegeln auch die in dieser Studie erhobenen Daten wider. Es ist anzunehmen, dass sCD-14 als prognostischer oder diagnostischer Marker bei FNAIT als nicht relevant einzustufen ist.

Für Procalcitonin (PCT) ergab sich hingegen eine signifikant negative Korrelation mit der Thrombozytenzahl in der Gesamt-Kohorte ($p < 0{,}001$; $rs = -0{,}430$), in der FNAIT-Kohorte ($p = 0{,}047$; $rs = -0{,}359$) sowie in der Kontroll-Kohorte ($p = 0{,}024$; $rs = -0{,}338$). Ein signifikanter Unterschied der PCT-Konzentrationen zwischen den beiden Kohorten war jedoch nicht nachweisbar.

Die Interpretation dieser Beobachtung muss kritisch erfolgen. Procalcitonin unterliegt nach der Geburt einer physiologischen Konzentrationsdynamik und wird zudem durch verschiedene perinatale Faktoren beeinflusst (Eschborn und Weitkamp 2019). So sinkt die PCT-Konzentration mit zunehmendem Geburtsgewicht (–2,2 % pro 100 g) und Gestationsalter (–11,4 % pro Woche), während sie mit der Dauer des Blasensprungs ansteigt (Chiesa et al. 2011; Turner et al. 2006). Auch das Geburtsgewicht und das Gestationsalter sind bei Neugeborenen mit FNAIT oft reduziert (Nedberg et al. 2021), zudem erfolgt die Entbindung nicht selten vorzeitig per Kaiserschnitt zur Prävention schwerer Blutungskomplikationen (Kjeldsen-Kragh et al. 2007). Dies führt zu weiteren möglichen Einflussfaktoren, die die Interpretation der PCT-Werte erschweren. Eine große norwegische Studie konnte zudem zeigen, dass bei 21,5 % der Kinder nach

prophylaktischem Kaiserschnitt Komplikationen wie Atemnotsyndrome aufgrund unreifer Lungenentwicklung auftraten (Kjeldsen-Kragh et al. 2007; Vos et al. 2020). Auch Infektionen können PCT-Werte beeinflussen; diese wurden in unserer Kohorte zwar nicht systematisch dokumentiert, stellen aber potenzielle Störfaktoren dar (Reinhart et al. 2012).

Insgesamt ist daher davon auszugehen, dass die beobachtete Korrelation zwischen PCT und der Thrombozytenzahl nicht kausal zu interpretieren ist, sondern vielmehr unspezifische inflammatorische Prozesse widerspiegelt, die unabhängig vom spezifischen Auslöser (immunologisch oder infektiös) Einfluss auf die Regulation der Thrombozytenzahl nehmen können.

Zusammenfassend lassen die erhobenen Daten vermuten, dass systemische Inflammationsmarker keinen relevanten Beitrag zur Pathogenese oder Prognoseeinschätzung der FNAIT leisten. Methodisch ist hierbei zu berücksichtigen, dass die Kontrollkohorte bewusst aus thrombopenischen Neugeborenen ohne Nachweis mütterlicher HPA-Antikörper bestand und somit nicht als gesunde Kontrollgruppe zu werten ist. Weitere Studien mit größeren Fallzahlen sind erforderlich, um die hier beobachteten Zusammenhänge, insbesondere im Hinblick auf Procalcitonin, zu verifizieren.

4.4 Die Bedeutung der plazentaren Entzündung für den Schweregrad FNAIT

Althaus et al. (2005) berichtet erstmalig über das Auftreten einer chronischen Villitis (Entzündung der Plazentazotten) bei unbehandelten FNAIT-Schwangerschaften. Diese Ergebnisse wurden gestützt durch Dubruc et al. (2016), welche eine chronische Chorioamnionitis, chronisch basale Villitis und chronische Intervillositis feststellen konnten sowie einem Fallbericht von Tchakarov et al. (2013). Zudem zeigte eine Arbeitsgruppe von Yougbaré et al. (2017) eine durch Natürliche Killerzellen ausgelöste Plazentadysfunktion in einem FNAIT-Mausmodel, welche zu Fehlgeburten und intrauterinen Wachstumsretardierung (IUGR, engl.: intrauterine growth retardation) führte. Dabei wird β3-Integrin als Antigen von HPA-1a-Antikörpern nicht nur von Thrombozyten (αIIbβ3), sondern auch von vaskulären Endothelzellen und Trophoblasten exprimiert (αVβ3) (Leeksma et al. 1987; van Gils et al. 2009; Kabir-Salmani et al. 2003). Nedberg et al. (2021) konnte einen starken Zusammenhang zwischen HPA-1a-Antikörpern im mütterlichen Serum und dem Risiko eine geringgradige chronisch-

histiozytäre Intervillositis zu entwickeln, nachweisen. Es stellt sich daher der Verdacht, dass HPA-1a-Antikörper die plazentare Angiogenese behindern und hypoxämische Schäden induzieren.

Eine Beeinträchtigung der Trophoblasteninvasion im großen Ausmaß kann bspw. bei der Präeklampsie beobachtet werden. Ein in der Diagnostik dieser Erkrankung essenzieller Marker ist sFlt-1. Dieser wird hauptsächlich in Trophoblasten produziert und ein Hauptinduktor für die Ausschüttung stellt eine Gewebehypoxämie dar (Zeisler et al. 2016; Maynard et al. 2003).

Diese Arbeit konnte einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer erniedrigten Thrombozytenzahl und einer erhöhten sFlt-1-Konzentration bei Neugeborenen mit einer FNAIT nachweisen ($p= 0,021$; $r_s= -0,388$). Diesen Zusammenhang zeigte die Kontroll-Kohorte nicht. Hieraus stellt sich die Hypothese, dass die Schwere der plazentaren Entzündung mit sFlt-1 als Marker den Schweregrad einer FNAIT widerspiegelt. Der Schweregrad der FNAIT wiederrum wird über die kindliche Thrombozytenzahl definiert. Dabei steigt mit sinkender Thrombozytenzahl auch die Wahrscheinlichkeit einer intrakraniellen Blutung (schweres Blutungsereignis), was derzeit der einzige Risikofaktor für diese darstellt und sich in den Ergebnissen dieser Arbeit auch präsentiert (Ghevaert et al. 2007b).

Die in dieser Arbeit aufgestellte Hypothese zwischen der plazentaren Entzündung und dem Schweregrad der FNAIT präsentiert sich wie folgt: Eine durch HPA-1a-Antikörper ausgelöste chronische Villitis/Intervillositis führt zur Zerstörung von villösen Kapillaren durch CD-8+-T-Zellen (Nedberg et al. 2021). Dabei ist derzeit noch unklar, inwieweit die HPA-1a-Antikörperkonzentration die Schwere der plazentaren Entzündung widerspiegelt (Nedberg et al. 2021). Die HPA-1a-Antikörperkonzentration korreliert allerdings mit dem Schweregrad der durch die FNAIT verursachte Thrombozytopenie (Kjeldsen-Kragh et al. 2020). Durch die Kapillarschädigung kommt es zur lokalen Minderperfusion mit Gewebehypoxämien, vergleichbar einer Minderperfusion aufgrund einer gestörten Trophoblasteninvasion im Rahmen einer Präeklampsie (Chaiworapongsa et al. 2014). Dabei präsentiert sich die in der FNAIT ausgelöste plazentare Entzündung aber in der Ausprägung als geringgradig, kann jedoch in dem Schweregrad variieren und bis zu einem intrauterinen Fruchttod führen (Nedberg et al. 2021). Die induzierte Gewebehypoxämie führt zur Ausschüttung von sFlt-1 durch plazentare Trophoblasten.

Dabei besteht die Annahme, je intensiver die plazentare Entzündung ausfällt, die über eine erhöhte sFlt-1-Konzentration definiert ist, desto ausgeprägter auch die Thrombozytopenie und somit auch der Schweregrad der FNAIT ist.

Inwieweit dabei die Schwere der plazentaren Entzündung mit der Höhe der sFlt-1-Konzentration korreliert, ist unklar. Auch bleibt offen, ob ein Zusammenhang zwischen der HPA-1a-Antikörperkonzentration und der Ausprägung der plazentaren Entzündung oder den sFlt-1-Konzentrationen besteht. Eine wesentliche Limitation der vorliegenden Arbeit ist, dass keine Plazentahistologie vorlag, sodass die Verbindung zwischen biochemischen Markern und histologischen Veränderungen nicht direkt überprüft werden konnte.

Eine weitere methodische Einschränkung besteht darin, dass in dieser Arbeit keine Messung der HPA-1a-Antikörperkonzentration erfolgte und ausschließlich das HPA-1a-Antigen berücksichtigt wurde, obwohl auch andere Antigene (z. B. HPA-5b, HPA-1b, HPA-3a) für FNAIT verantwortlich sein können (Mueller-Eckhardt et al. 1989).

Diese Arbeit stellt erstmalig den Verdacht auf einen Zusammenhang zwischen einer plazentaren Entzündung und dem Schweregrad der FNAIT. Weitere Studien sind notwendig, um diese Hypothese zu bestätigen. Dabei sollte insbesondere der Zusammenhang zwischen HPA-1a-Antikörperkonzentration, plazentarer Entzündung und sFlt-1 untersucht werden. Analog zur Präeklampsie-Diagnostik, bei der das Verhältnis von sFlt-1 zu PlGF zur Risikoabschätzung genutzt wird (Zeisler et al. 2016), könnte auch bei FNAIT die kombinierte Betrachtung dieser Marker zukünftig von Interesse sein. PlGF als Gegenspieler zu sFlt-1 gehört zu den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren und reguliert die Angiogenese. In der vorliegenden Arbeit wurde PlGF nicht untersucht, da sich die Fragestellung auf systemische Entzündungsmarker konzentrierte. Zudem könnte die Einbeziehung des mütterlichen Serums zusätzliche Hinweise auf die Pathogenese liefern und perspektivisch neue diagnostische Ansätze eröffnen.

5. Zusammenfassung

Hintergrund: Die fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie (FNAIT) ist eine seltene, potenziell lebensbedrohliche Erkrankung, die durch maternale Alloantikörper gegen paternale Thrombozytenantigene verursacht wird. Intrakranielle Blutungen treten in etwa 10% der Fälle auf und stellen die schwerwiegendste Komplikation dar. Da die Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und dem Auftreten intrakranieller Blutungen nur schwach ist, wurde diskutiert, ob systemische oder plazentare Entzündungsprozesse den Schweregrad der Erkrankung modulieren. Ziel dieser Arbeit war es, diesen Zusammenhang zu untersuchen.

Studiendesign und Methoden: In einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie wurden Serumproben von 50 Neugeborenen mit FNAIT durch anti-HPA-1a-Antikörper (davon 11 mit intrakranieller Blutung) und 50 Kontrollproben thrombopenischer Neugeborener ohne FNAIT analysiert. Untersucht wurden die Inflammationsmarker C-reaktives Protein (CRP), Procalcitonin (PCT), löslicher fms-like Tyrosinkinase-1-Rezeptor (sFlt-1) und lösliches CD-14 (sCD-14). Die Messungen erfolgten mit kommerziell verfügbaren Testsystemen, die statistische Auswertung mittels Korrelations- und Gruppenanalysen.

Ergebnisse: Für CRP ($p = 0{,}965$) und sCD-14 ($p = 1{,}0$) konnte kein Zusammenhang mit der Thrombozytenzahl oder dem Auftreten intrakranieller Blutungen nachgewiesen werden. PCT zeigte eine signifikante negative Korrelation mit der Thrombozytenzahl (FNAIT: $r_s = -0{,}359$; $p = 0{,}047$), erwies sich jedoch aufgrund der bekannten Beeinflussung durch perinatale Faktoren (Geburtsgewicht, Gestationsalter, Dauer des Blasensprungs) als nicht pathophysiologisch relevant im Rahmen der FNAIT.
Ein signifikanter Zusammenhang ergab sich lediglich für sFlt-1, das in der FNAIT-Kohorte negativ mit der Thrombozytenzahl korrelierte ($r_s = -0{,}388$; $p = 0{,}021$), nicht jedoch in der Kontrollgruppe. Dies legt nahe, dass sFlt-1 als Marker einer plazentaren Entzündung oder Dysfunktion eine modulierende Rolle im Krankheitsverlauf spielen könnte.

Schlussfolgerung: Zusammenfassend deuten die Ergebnisse darauf hin, dass systemische Entzündungen keine wesentliche Rolle in der Pathogenese der FNAIT spielen. Hinweise finden sich jedoch dafür, dass plazentare Entzündungsvorgänge einen Einfluss auf den Schweregrad der Erkrankung haben könnten. Zukünftige Studien sollten daher die Kombination von Plazentahistologie, maternalen Antikörperspiegeln und angiogenetischen Markern (sFlt-1, ggf. PlGF) untersuchen. Perspektivisch könnte daraus

ein diagnostischer Ansatz entwickelt werden, der, ähnlich wie in der Präeklampsie-Diagnostik, eine frühzeitige und kosteneffiziente Risikostratifizierung ermöglicht.

6. Summary

Background: Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia (FNAIT) is a rare but potentially life-threatening disorder caused by maternal alloantibodies against paternal platelet antigens. Intracranial hemorrhage occurs in approximately 10% of cases and represents the most severe complication. Since the correlation between platelet count and the occurrence of intracranial hemorrhage is weak, it has been discussed whether systemic or placental inflammatory processes may modulate disease severity. The aim of this study was to investigate this association.

Study design and methods: In a retrospective case-control study, serum samples from 50 newborns with FNAIT due to anti-HPA-1a antibodies (including 11 with intracranial hemorrhage) and 50 control samples from thrombocytopenic newborns without FNAIT were analyzed. Inflammatory markers including C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), soluble fms-like tyrosine kinase-1 receptor (sFlt-1), and soluble CD-14 (sCD-14) were measured using commercially available test systems. Statistical analyses included correlation and group comparisons.

Results: No association was found for CRP ($p = 0.965$) or sCD-14 ($p = 1.0$) with platelet count or the occurrence of intracranial hemorrhage. PCT showed a significant negative correlation with platelet count (FNAIT: $rs = –0.359$; $p = 0.047$), but due to strong influence from perinatal factors (birth weight, gestational age, duration of membrane rupture) it was considered not pathophysiologically relevant in FNAIT. A significant association was found only for sFlt-1, which negatively correlated with platelet count in the FNAIT cohort ($rs = –0.388$; $p = 0.021$), but not in the control group. This suggests that sFlt-1, as a marker of placental inflammation or dysfunction, may play a modulatory role in the disease course.

Conclusions: Taken together, the results suggest that systemic inflammation does not play a major role in the pathogenesis of FNAIT. However, there is evidence that placental inflammatory processes may influence disease severity. Future studies should therefore investigate the combination of placental histology, maternal antibody levels, and

angiogenic markers (sFlt-1, possibly PlGF). In the long term, this may lead to the development of a diagnostic approach which, similar to preeclampsia diagnostics, could enable early and cost-effective risk stratification.

7. Abkürzungsverzeichnis

APC – Antigenpräsentierende Zelle

CD – Cluster of Differentiation

CRP – C-reaktives Protein

ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assay

FNAIT – Fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie

GP – Glykoprotein

HLA – Humanes Leukozytenantigen

HPA – Humanes Plättchenantigen

ICH – Intrakranielle Hämorrhagie

IgG – Immunglobulin G

IL – Interleukin

IUGR – Intrauterine Wachstumsretardierung

IVIG – Intravenöse Immunglobuline

LBP – LPS-Bindungsprotein

LPS – Lipopolysaccharid

MAPK – Mitogen-aktivierte Proteinkinase

mCRP – Monomeres C-reaktives Protein

NF-κB – Nukleärer Faktor Kappa-B

OCT – Offenes kanalikuläres Tubulussystem

PAMP – Pathogen-assoziiertes molekulares Muster (engl. pathogen-associated molecular pattern)

PCT – Procalcitonin

PEG2 – Prostaglandin E2

PlGF – Placental Growth Factor

PRR – Pattern-Recognition-Rezeptoren

sCD-14 – Solubles Cluster of Differentiation 14

sFlt-1 – Soluble fms-like tyrosine kinase-1

SNP – Single Nucleotide Polymorphism

SSW – Schwangerschaftswoche

TLR – Toll-like-Rezeptor

TNF-α – Tumornekrosefaktor alpha

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor

8. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: CD-14/TLR-4-vermittelte Erkennung von Lipopolysacchariden und Aktivierung proinflammatorischer Signalwege (Ciesielska et al. 2021) 28
Abbildung 2: Korrelationen zwischen der Erkrankungsausprägung (bestätigte FNAIT vs. Non-FNAIT) mit den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml) sowie der kindlichen Thrombozytenzahl (/µl).....41
Abbildung 3: Vergleich zwischen einer intrakraniellen Hämorrhagie (bestätigte intrakranielle Hämorrhagie (n=12); keine intrakranielle Hämorrhagie (n=88)) und den gemessenen Inflammationsmarkern C-Reaktives-Protein (mg/l), Procalcitonin (µg/l), sFlt-1 (pg/ml) und Cluster-of-differention-14 (µg/ml). 43
Abbildung 4: Vergleich zwischen der Erkrankungsausprägung sowie einer intrakraniellen Blutung und der kindlichen Thrombozytenzahl (/µl) 44
Abbildung 5:Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der C-reaktiven Protein-Konzentration (mg/dl) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung. (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)). 45
Abbildung 6: Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der Procalcitonin-Konzentration (µg/l) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)). 46
Abbildung 7: Korrelation zwischen der postnatalen Thrombozytenzahl (/µl) und der sFlt-1-Konzentration (pg/ml) in Abhängigkeit der Erkrankungsausprägung (Gesamtkohorte (n=100), bestätigte FNAIT (n=50), Non FNAIT (n=50)). 47

9. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der humanen Plättchenantigene (HPA) nach System, Antigen, Glykoprotein und CD-Zuordnung 15
Tabelle 2: Bestandteile des verwendeten Luminex-Testkits 33
Tabelle 3: Basischarakteristika des Patientenkollektivs 37
Tabelle 4: Charakteristika nach Geschlecht 38
Tabelle 5: Charakteristika nach Erkrankungsgruppen 38
Tabelle 6: Charakteristika nach intrakraniellen Hämorrhagien 39

10. Literaturverzeichnis

10.1 Literatur

Agassandian, M., Shurin, G.V., Ma, Y., & Shurin, M.R. (2014). C-reactive protein and lung diseases. *The international journal of biochemistry & cell biology, 53*, 77–88.

Ahmad, S., & Ahmed, A. (2004). Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circulation research, 95*(9), 884–891.

Aloisio, E., Dolci, A., & Panteghini, M. (2019). Procalcitonin: Between evidence and critical issues. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 496*, 7–12.

Althaus, J., Weir, E.G., Askin, F., Kickler, T.S., & Blakemore, K. (2005). Chronic villitis in untreated neonatal alloimmune thrombocytopenia: an etiology for severe early intrauterine growth restriction and the effect of intravenous immunoglobulin therapy. *American journal of obstetrics and gynecology, 193*(3 Pt 2), 1100–1104.

Ambati, B.K., Nozaki, M., Singh, N., Takeda, A., Jani, P.D., Suthar, T., et al. (2006). Corneal avascularity is due to soluble VEGF receptor-1. *Nature, 443*(7114), 993–997.

Anani Sarab, G., Moss, M., Barker, R.N., & Urbaniak, S.J. (2009). Naturally processed peptides spanning the HPA-1a polymorphism are efficiently generated and displayed from platelet glycoprotein by HLA-DRB3*0101-positive antigen-presenting cells. *Blood, 114*(9), 1954–1957.

Assicot, M., Bohuon, C., Gendrel, D., Raymond, J., Carsin, H., & Guilbaud, J. (1993). High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *The Lancet, 341*(8844), 515–518.

Assumma, M., Signore, F., Pacifico, L., Rossi, N., Osborn, J.F., & Chiesa, C. (2000). Serum Procalcitonin Concentrations in Term Delivering Mothers and Their Healthy Offspring: A Longitudinal Study. *Clinical chemistry, 46*(10), 1583–1587.

Barleon, B., Sozzani, S., Zhou, D., Weich, H.A., Mantovani, A., & Marmé, D. (1996). Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood, 87*(8), 3336–3343.

Bellieni, C.V., Liuzzo, L.P., Giomi, S., Tei, M., Stazzoni, G., Bertrando, S., et al. (2014). C-reactive protein: A marker of neonatal stress? *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of*

Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians, 27(6), 612–615.

Berner, R., Fürll, B., Stelter, F., Dröse, J., Müller, H.-P., & Schütt, C. (2002). Elevated levels of lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 in plasma in neonatal early-onset sepsis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 9*(2), 440–445.

Bessos, H., Turner, M., & Urbaniak, S.J. (2005). Is there a relationship between anti-HPA-1a concentration and severity of neonatal alloimmune thrombocytopenia? *Immunohematology, 21*(3), 102–109.

Bianchi, M.E. (2007). DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology, 81*(1), 1–5.

Bihan, H., Becker, K.L., Snider, R.H., Nylen, E., Vittaz, L., Lauret, C., et al. (2003). Calcitonin precursor levels in human medullary thyroid carcinoma. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association, 13*(8), 819–822.

Boehlen, F., Kaplan, C., & Moerloose, P. de (1998). Severe neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HPA-3a. *Vox sanguinis, 74*(3), 201–204.

Bonacossa, I.A., & Jocelyn, L.J. (1996). Alloimmune thrombocytopenia of the newborn: neurodevelopmental sequelae. *American journal of perinatology, 13*(4), 211–215.

Borne, A.E. von dem, & Décary, F. (1990). Nomenclature of Platelet-Specific Antigens. *Human Immunology, 29*(1), 1–2.

Brambell, F. (1966). THE TRANSMISSION OF IMMUNITY FROM MOTHER TO YOUNG AND THE CATABOLISM OF IMMUNOGLOBULINS. *The Lancet, 288*(7473), 1087–1093.

Broad, P.M., Symes, A.J., Thakker, R.V., & Craig, R.K. (1989). Structure and methylation of the human calcitonin/alpha-CGRP gene. *Nucleic Acids Research, 17*(17), 6999–7011.

Brooks, P.C., Montgomery, A.M., Rosenfeld, M., Reisfeld, R.A., Hu, T., Klier, G., et al. (1994). Integrin αvβ3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell, 79*(7), 1157–1164.

Brunkhorst, F.M., Heinz, U., & Forycki, Z.F. (1998). Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive care medicine, 24*(8), 888–889.

Bryckaert, M., Rosa, J.-P., Denis, C.V., & Lenting, P.J. (2015). Of von Willebrand factor and platelets. *Cellular and molecular life sciences : CMLS, 72*(2), 307–326.

Bufler, P., Stiegler, G., Schuchmann, M., Hess, S., Krüger, C., Stelter, F., et al. (1995). Soluble lipopolysaccharide receptor (CD14) is released via two different mechanisms from human monocytes and CD14 transfectants. *European journal of immunology, 25*(2), 604–610.

Burrows, R.F., & Kelton, J.G. (1993). Fetal thrombocytopenia and its relation to maternal thrombocytopenia. *The New England journal of medicine, 329*(20), 1463–1466.

Bussel, J. (2009). Diagnosis and management of the fetus and neonate with alloimmune thrombocytopenia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH, 7 Suppl 1*, 253–257.

Bussel, J.B., Berkowitz, R.L., Hung, C., Kolb, E.A., Wissert, M., Primiani, A., et al. (2010). Intracranial hemorrhage in alloimmune thrombocytopenia: stratified management to prevent recurrence in the subsequent affected fetus. *American journal of obstetrics and gynecology, 203*(2), 135.e1-14.

Bussel, J.B., Berkowitz, R.L., McFarland, J.G., Lynch, L., & Chitkara, U. (1988). Antenatal treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *The New England journal of medicine, 319*(21), 1374–1378.

Bussel, J.B., & Primiani, A. (2008). Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: progress and ongoing debates. *Blood reviews, 22*(1), 33–52.

Bussel, J.B., Zabusky, M.R., Berkowitz, R.L., & McFarland, J.G. (1997). Fetal alloimmune thrombocytopenia. *The New England journal of medicine, 337*(1), 22–26.

Bussel, J.B., Zacharoulis, S., Kramer, K., McFarland, J.G., Pauliny, J., & Kaplan, C. (2005). Clinical and diagnostic comparison of neonatal alloimmune thrombocytopenia to non-immune cases of thrombocytopenia. *Pediatric blood & cancer, 45*(2), 176–183.

Cao, X. (2016). Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease. *Nature reviews. Immunology, 16*(1), 35–50.

Carmeliet, P. (2005). VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology, 69 Suppl 3*, 4–10.

Cébe-Suarez, S., Zehnder-Fjällman, A., & Ballmer-Hofer, K. (2006). The role of VEGF receptors in angiogenesis; complex partnerships. *Cellular and molecular life sciences : CMLS, 63*(5), 601–615.

Chaiworapongsa, T., Chaemsaithong, P., Yeo, L., & Romero, R. (2014). Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nature reviews. Nephrology, 10*(8), 466–480.

Chalupa, P., Beran, O., Herwald, H., Kaspříková, N., & Holub, M. (2011). Evaluation of potential biomarkers for the discrimination of bacterial and viral infections. *Infection, 39*(5), 411–417.

Chappell, J.C., Taylor, S.M., Ferrara, N., & Bautch, V.L. (2009). Local guidance of emerging vessel sprouts requires soluble Flt-1. *Developmental cell, 17*(3), 377–386.

Charnock-Jones, D.S., Sharkey, A.M., Boocock, C.A., Ahmed, A., Plevin, R., Ferrara, N., et al. (1994). Vascular endothelial growth factor receptor localization and activation in human trophoblast and choriocarcinoma cells. *Biology of reproduction, 51*(3), 524–530.

Chen, P., Li, C., Lang, S., Zhu, G., Reheman, A., Spring, C.M., et al. (2010). Animal model of fetal and neonatal immune thrombocytopenia: role of neonatal Fc receptor in the pathogenesis and therapy. *Blood, 116*(18), 3660–3668.

Chiesa, C., Natale, F., Pascone, R., Osborn, J.F., Pacifico, L., Bonci, E., et al. (2011). C reactive protein and procalcitonin: Reference intervals for preterm and term newborns during the early neonatal period. *Clinica Chimica Acta, 412*(11-12), 1053–1059.

Chiesa, C., Pellegrini, G., Panero, A., Osborn, J.F., Signore, F., Assumma, M., et al. (2003). C-reactive protein, interleukin-6, and procalcitonin in the immediate postnatal period: influence of illness severity, risk status, antenatal and perinatal complications, and infection. *Clinical chemistry, 49*(1), 60–68.

Ciesielska, A., Matyjek, M., & Kwiatkowska, K. (2021). TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and molecular life sciences : CMLS, 78*(4), 1233–1261.

Clemetson, K.J., & Clemetson, J.M. (1995). Platelet GPIb-V-IX complex. Structure, function, physiology, and pathology. *Seminars in thrombosis and hemostasis, 21*(2), 130–136.

COPP, D.H., CAMERON, E.C., CHENEY, B.A., DAVIDSON, A.G., & HENZE, K.G. (1962). Evidence for calcitonin--a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. *Endocrinology, 70*, 638–649.

Curtis, B.R., & McFarland, J.G. (2014). Human platelet antigens - 2013. *Vox sanguinis, 106*(2), 93–102.

Dale, S.T., & Coleman, L.T. (2002). Neonatal alloimmune thrombocytopenia: antenatal and postnatal imaging findings in the pediatric brain. *AJNR. American journal of neuroradiology, 23*(9), 1457–1465.

Dandona, P., Nix, D., Wilson, M.F., Aljada, A., Love, J., Assicot, M., et al. (1994). Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 79*(6), 1605–1608.

Davoren, A., Curtis, B.R., Aster, R.H., & McFarland, J.G. (2004). Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion, 44*(8), 1220–1225.

Delbos, F., Bertrand, G., Croisille, L., Ansart-Pirenne, H., Bierling, P., & Kaplan, C. (2016). Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: predictive factors of intracranial hemorrhage. *Transfusion, 56*(1), 59-66; quiz 58.

Di Napoli, M., Godoy, D.A., Campi, V., Masotti, L., Smith, C.J., Parry Jones, A.R., et al. (2012). C-reactive protein in intracerebral hemorrhage: time course, tissue localization, and prognosis. *Neurology, 79*(7), 690–699.

Di Napoli, M., Parry-Jones, A.R., Smith, C.J., Hopkins, S.J., Slevin, M., Masotti, L., et al. (2014). C-Reactive Protein Predicts Hematoma Growth in Intracerebral Hemorrhage. *Stroke, 45*(1), 59–65.

Dreyfus, M., Kaplan, C., Verdy, E., Schlegel, N., Durand-Zaleski, I., & Tchernia, G. (1997). Frequency of Immune Thrombocytopenia in Newborns: A Prospective Study. *Blood, 89*(12), 4402–4406.

Dubruc, E., Lebreton, F., Giannoli, C., Rabilloud, M., Huissoud, C., Devouassoux-Shisheboran, M., et al. (2016). Placental histological lesions in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: A retrospective cohort study of 21 cases. *Placenta, 48*, 104–109.

Eschborn, S., & Weitkamp, J.-H. (2019). Procalcitonin versus C-reactive protein: review of kinetics and performance for diagnosis of neonatal sepsis. *Journal of Perinatology, 39*(7), 893–903.

Estavillo, D., Ritchie, A., Diacovo, T.G., & Cruz, M.A. (1999). Functional analysis of a recombinant glycoprotein Ia/IIa (Integrin alpha(2)beta(1)) I domain that inhibits platelet adhesion to collagen and endothelial matrix under flow conditions. *Journal of Biological Chemistry, 274*(50), 35921–35926.

Eubank, T.D., Roda, J.M., Liu, H., O'Neil, T., & Marsh, C.B. (2011). Opposing roles for HIF-1α and HIF-2α in the regulation of angiogenesis by mononuclear phagocytes. *Blood, 117*(1), 323–332.

Failla, C.M., Carbo, M., & Morea, V. (2018). Positive and Negative Regulation of Angiogenesis by Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1. *International journal of molecular sciences, 19*(5).

Fernández-Real, J.M., Del Pérez Pulgar, S., Luche, E., Moreno-Navarrete, J.M., Waget, A., Serino, M., et al. (2011). CD14 modulates inflammation-driven insulin resistance. *Diabetes, 60*(8), 2179–2186.

Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L., & Leung, D.W. (1992). Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocrine reviews, 13*(1), 18–32.

Folkman, J. (1995). Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature medicine, 1*(1), 27–31.

Funda, D.P., Tucková, L., Farré, M.A., Iwase, T., Moro, I., & Tlaskalová-Hogenová, H. (2001). CD14 is expressed and released as soluble CD14 by human intestinal epithelial cells in vitro: lipopolysaccharide activation of epithelial cells revisited. *Infection and immunity, 69*(6), 3772–3781.

Gerber, H.P., Condorelli, F., Park, J., & Ferrara, N. (1997). Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. *Journal of Biological Chemistry, 272*(38), 23659–23667.

Ghevaert, C., Campbell, K., Stafford, P., Metcalfe, P., Casbard, A., Smith, G.A., et al. (2007a). HPA-1a antibody potency and bioactivity do not predict severity of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion, 47*(7), 1296–1305.

Ghevaert, C., Campbell, K., Walton, J., Smith, G.A., Allen, D., Williamson, L.M., et al. (2007b). Management and outcome of 200 cases of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion, 47*(5), 901–910.

Gioannini, T.L., Teghanemt, A., Des Zhang, Levis, E.N., & Weiss, J.P. (2005). Monomeric endotoxin:protein complexes are essential for TLR4-dependent cell activation. *Journal of endotoxin research, 11*(2), 117–123.

Gioannini, T.L., Teghanemt, A., Zhang, D., Coussens, N.P., Dockstader, W., Ramaswamy, S., et al. (2004). Isolation of an endotoxin-MD-2 complex that produces Toll-like receptor 4-dependent cell activation at picomolar concentrations.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101(12), 4186–4191.

Gogos, C.A., Drosou, E., Bassaris, H.P., & Skoutelis, A. (2000). Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. *The Journal of infectious diseases, 181*(1), 176–180.

Gressner, A.M., & Arndt, T. (2013). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik.* Berlin, Heidelberg: Springer.

Griessenauer, C.J., Chua, M.H., Hanafy, K.A., Baffour, Y.T., Chen, R., LeBlanc, R.H., et al. (2017). Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase 1 (sFlt-1) and Risk of Cerebral Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *World Neurosurgery, 108*, 84–89.

Gruel, Y., Boizard, B., Daffos, F., Forestier, F., Caen, J., & Wautier, J.L. (1986). Determination of platelet antigens and glycoproteins in the human fetus. *Blood, 68*(2), 488–492.

Guerra, S., Lohman, I.C., Halonen, M., Martinez, F.D., & Wright, A.L. (2004). Reduced interferon gamma production and soluble CD14 levels in early life predict recurrent wheezing by 1 year of age. *American journal of respiratory and critical care medicine, 169*(1), 70–76.

Gullberg, D. (2014). *I Domain Integrins.* Dordrecht: Springer Netherlands.

H.J. Moshage et al. (1988). The effect of interleukin-1, interleukin-6 and its interrelationship on the synthesis of serum amyloid A and C-reactive protein in primary cultures of adult human hepatocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 155*(1), 112–117.

Hanson, S.R., & Slichter, S.J. (1985). Platelet kinetics in patients with bone marrow hypoplasia: evidence for a fixed platelet requirement. *Blood, 66*(5), 1105–1109.

HARRINGTON, W.J., SPRAGUE, C.C., MINNICH, V., MOORE, C.V., AULVIN, R.C., & DUBACH, R. (1953). Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. *Annals of internal medicine, 38*(3), 433–469.

Haziot, A., Chen, S., Ferrero, E., Low, M.G., Silber, R., & Goyert, S.M. (1988). The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 141*(2), 547–552.

Hentges, C.R., Silveira, R.C., & Procianoy, R.S. (2015). Angiogenic and Antiangiogenic Factors in Preterm Neonates Born to Mothers with and without Preeclampsia. *American journal of perinatology, 32*(12), 1185–1190.

Hiratsuka, S., Minowa, O., Kuno, J., Noda, T., & Shibuya, M. (1998). Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95*(16), 9349–9354.

Hofer, N., Müller, W., & Resch, B. (2011). Non-infectious conditions and gestational age influence C-reactive protein values in newborns during the first 3 days of life. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 49*(2), 297–302.

Hou, M., Stockelberg, D., Rydberg, L., Kutti, J., & Wadenvik, H. (1996). Blood group A antigen expression in platelets is prominently associated with glycoprotein Ib and IIb. Evidence for an A1/A2 difference. *Transfusion medicine (Oxford, England), 6*(1), 51–59.

Hurlimann, J., Thorbecke, G.J., & Hochwald, G.M. (1966). The liver as the site of C-reactive protein formation. *The Journal of Experimental Medicine, 123*(2), 365–378.

Hynes, R.O. (1992). Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell, 69*(1), 11–25.

Hynes, R.O. (2002). Integrins. *Cell, 110*(6), 673–687.

Ikeda, T., Sun, L., Tsuruoka, N., Ishigaki, Y., Yoshitomi, Y., Yoshitake, Y., et al. (2011). Hypoxia down-regulates sFlt-1 (sVEGFR-1) expression in human microvascular endothelial cells by a mechanism involving mRNA alternative processing. *The Biochemical journal, 436*(2), 399–407.

Itakura, J., Ishiwata, T., Shen, B., Kornmann, M., & Korc, M. (2000). Concomitant over-expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in pancreatic cancer. *International journal of cancer, 85*(1), 27–34.

Jacobs, J.W., Goodman, R.H., Chin, W.W., Dee, P.C., Habener, J.F., Bell, N.H., et al. (1981). Calcitonin messenger RNA encodes multiple polypeptides in a single precursor. *Science (New York, N.Y.), 213*(4506), 457–459.

Janeway, C.A. (1989). Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology, 54 Pt 1*, 1–13.

Jeeha, R., Skinner, D.L., Vasconcellos, K. de, & Magula, N.P. (2018). Serum procalcitonin levels predict acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrology (Carlton, Vic.), 23*(12), 1090–1095.

Jiang, Z., Georgel, P., Du, X., Shamel, L., Sovath, S., Mudd, S., et al. (2005). CD14 is required for MyD88-independent LPS signaling. *Nature immunology, 6*(6), 565–570.

Joffre, O., Nolte, M.A., Spörri, R., & Reis e Sousa, C. (2009). Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity. *Immunological reviews, 227*(1), 234–247.

Kabir-Salmani, M., Shiokawa, S., Akimoto, Y., Sakai, K., Nagamatsu, S., Sakai, K., et al. (2003). Alphavbeta3 integrin signaling pathway is involved in insulin-like growth factor I-stimulated human extravillous trophoblast cell migration. *Endocrinology, 144*(4), 1620–1630.

Kamphuis, M.M., Paridaans, N., Porcelijn, L., Haas, M. de, van der Schoot, C.E., Brand, A., et al. (2010). Screening in pregnancy for fetal or neonatal alloimmune thrombocytopenia: systematic review. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology, 117*(11), 1335–1343.

Kamphuis, M.M., Paridaans, N.P., Porcelijn, L., Lopriore, E., & Oepkes, D. (2014). Incidence and consequences of neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Pediatrics, 133*(4), 715–721.

Kanhai, H.H.H., Porcelijn, L., Engelfriet, C.P., Reesink, H.W., Panzer, S., Ulm, B., et al. (2007). Management of alloimmune thrombocytopenia. *Vox sanguinis, 93*(4), 370–385.

Kaplan, R.N., Riba, R.D., Zacharoulis, S., Bramley, A.H., Vincent, L., Costa, C., et al. (2005). VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature, 438*(7069), 820–827.

Kappas, N.C., Zeng, G., Chappell, J.C., Kearney, J.B., Hazarika, S., Kallianos, K.G., et al. (2008). The VEGF receptor Flt-1 spatially modulates Flk-1 signaling and blood vessel branching. *The Journal of cell biology, 181*(5), 847–858.

Kapur, R., Heitink-Polle, K.M.J., Porcelijn, L., Bentlage, A.E.H., Bruin, M.C.A., Visser, R., et al. (2015). C-reactive protein enhances IgG-mediated phagocyte responses and thrombocytopenia. *Blood, 125*(11), 1793–1802.

Kawai, T., Takeuchi, O., Fujita, T., Inoue, J., Mühlradt, P.F., Sato, S., et al. (2001). Lipopolysaccharide stimulates the MyD88-independent pathway and results in activation of IFN-regulatory factor 3 and the expression of a subset of lipopolysaccharide-inducible genes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 167*(10), 5887–5894.

Kendall, R.L., & Thomas, K.A. (1993). Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90*(22), 10705–10709.

Kendall, R.L., Wang, G., & Thomas, K.A. (1996). Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 226*(2), 324–328.

Kiefel, V. (2010). *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen - Therapie - Methodik.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Kiefel, V. (2014). Immunthrombozytopenie: Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie. *Transfusionsmedizin - Immunhämatologie, Hämotherapie, Immungenetik, Zelltherapie, 4*(02), 88–102.

Kieffer, N., & Phillips, D.R. (1990). Platelet membrane glycoproteins: functions in cellular interactions. *Annual review of cell biology, 6*, 329–357.

Killie, M.K., Husebekk, A., Kjeldsen-Kragh, J., & Skogen, B. (2008). A prospective study of maternal anti-HPA 1a antibody level as a potential predictor of alloimmune thrombocytopenia in the newborn. *Haematologica, 93*(6), 870–877.

Kjaer, M., Bertrand, G., Bakchoul, T., Massey, E., Baker, J.M., Lieberman, L., et al. (2019). Maternal HPA-1a antibody level and its role in predicting the severity of Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: a systematic review. *Vox sanguinis, 114*(1), 79–94.

Kjeldsen-Kragh, J., & Bengtsson, J. (2020). Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia-New Prospects for Fetal Risk Assessment of HPA-1a-Negative Pregnant Women. *Transfusion medicine reviews, 34*(4), 270–276.

Kjeldsen-Kragh, J., Fergusson, D.A., Kjaer, M., Lieberman, L., Greinacher, A., Murphy, M.F., et al. (2020). Fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review of impact of HLA-DRB3*01:01 on fetal/neonatal outcome. *Blood advances, 4*(14), 3368–3377.

Kjeldsen-Kragh, J., Killie, M.K., Tomter, G., Golebiowska, E., Randen, I., Hauge, R., et al. (2007). A screening and intervention program aimed to reduce mortality and serious morbidity associated with severe neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood, 110*(3), 833–839.

Knight, M., Pierce, M., Allen, D., Kurinczuk, J.J., Spark, P., Roberts, D.J., et al. (2011). The incidence and outcomes of fetomaternal alloimmune thrombocytopenia: a UK national study using three data sources. *British journal of haematology, 152*(4), 460–468.

Kopterides, P., Siempos, I.I., Tsangaris, I., Tsantes, A., & Armaganidis, A. (2010). Procalcitonin-guided algorithms of antibiotic therapy in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical care medicine, 38*(11), 2229–2241.

Korevaar, T.I.M., Steegers, E.A.P., Schalekamp-Timmermans, S., Ligthart, S., Rijke, Y.B. de, Visser, W.E., et al. (2014). Soluble Flt1 and placental growth factor are novel determinants of newborn thyroid (dys)function: the generation R study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 99*(9), E1627-34.

Kroll, H., Penke, G., & Santoso, S. (2005). Functional heterogeneity of alloantibodies against the human platelet antigen (HPA)-1a. *Thrombosis and haemostasis, 94*(6), 1224–1229.

Kumpel, B.M., & Manoussaka, M.S. (2012). Placental immunology and maternal alloimmune responses. *Vox sanguinis, 102*(1), 2–12.

Kumpel, B.M., Sibley, K., Jackson, D.J., White, G., & Soothill, P.W. (2008). Ultrastructural localization of glycoprotein IIIa (GPIIIa, beta 3 integrin) on placental syncytiotrophoblast microvilli: implications for platelet alloimmunization during pregnancy. *Transfusion, 48*(10), 2077–2086.

Kunicki, T.J. (1989). Platelet membrane glycoproteins and their function: an overview. *Blut, 59*(1), 30–34.

Lawrence, T. (2009). The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor perspectives in biology, 1*(6), a001651.

Le Moullec, J.M., Jullienne, A., Chenais, J., Lasmoles, F., Guliana, J.M., Milhaud, G., et al. (1984). The complete sequence of human preprocalcitonin. *FEBS Letters, 167*(1), 93–97.

Leeksma, O.C., Giltay, J.C., Zandbergen-Spaargaren, J., Modderman, P.W., van Mourik, J.A., & Borne, A.E. von dem (1987). The platelet alloantigen Zwa or PlA1 is expressed by cultured endothelial cells. *British journal of haematology, 66*(3), 369–373.

Legler, D.F., Bruckner, M., Uetz-von Allmen, E., & Krause, P. (2010). Prostaglandin E2 at new glance: novel insights in functional diversity offer therapeutic chances. *The international journal of biochemistry & cell biology, 42*(2), 198–201.

Li, C., Li, J., Li, Y., Lang, S., Yougbare, I., Zhu, G., et al. (2012). Crosstalk between Platelets and the Immune System: Old Systems with New Discoveries. *Advances in hematology, 2012*, 384685.

Li, C., Piran, S., Chen, P., Lang, S., Zarpellon, A., Jin, J.W., et al. (2011). The maternal immune response to fetal platelet GPIbα causes frequent miscarriage in mice that can be prevented by intravenous IgG and anti-FcRn therapies. *The Journal of clinical investigation*, 4537–4547.

Liappis, A.P., Gibbs, K.W., Nylen, E.S., Yoon, B., Snider, R.H., Gao, B., et al. (2011). Exogenous procalcitonin evokes a pro-inflammatory cytokine response. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.], 60*(2), 203–207.

Lieberman, L., Greinacher, A., Murphy, M.F., Bussel, J., Bakchoul, T., Corke, S., et al. (2019). Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: Recommendations for evidence-based practice, an international approach. *British journal of haematology*.

Linscheid, P., Seboek, D., Nylen, E.S., Langer, I., Schlatter, M., Becker, K.L., et al. (2003). In vitro and in vivo calcitonin I gene expression in parenchymal cells: a novel product of human adipose tissue. *Endocrinology, 144*(12), 5578–5584.

Lundell, A.-C., Adlerberth, I., Lindberg, E., Karlsson, H., Ekberg, S., Aberg, N., et al. (2007). Increased levels of circulating soluble CD14 but not CD83 in infants are associated with early intestinal colonization with Staphylococcus aureus. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 37*(1), 62–71.

Machlus, K.R., & Italiano, J.E. (2013). The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *The Journal of cell biology, 201*(6), 785–796.

Mackiewicz, A., Speroff, T., Ganapathi, M.K., & Kushner, I. (1991). Effects of cytokine combinations on acute phase protein production in two human hepatoma cell lines. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 146*(9), 3032–3037.

Madamanchi, A., Santoro, S.A., & Zutter, M.M. (2014). α2β1 Integrin. *Advances in experimental medicine and biology, 819*, 41–60.

Maddaloni, C., Rose, D.U. de, Santisi, A., Martini, L., Caoci, S., Bersani, I., et al. (2021). The Emerging Role of Presepsin (P-SEP) in the Diagnosis of Sepsis in the

Critically Ill Infant: A Literature Review. *International journal of molecular sciences, 22*(22).

Malamitsi-Puchner, A., Sarandakou, A., Giannaki, G., Rizos, D., & Phocas, I. (1997). Changes of angiogenin serum concentrations in the perinatal period. *Pediatric research, 41*(6), 909–911.

Mangogna, A., Agostinis, C., Ricci, G., Romano, F., & Bulla, R. (2019). Overview of procalcitonin in pregnancy and in pre-eclampsia. *Clinical and experimental immunology, 198*(1), 37–46.

Marcos, V., Latzin, P., Hector, A., Sonanini, S., Hoffmann, F., Lacher, M., et al. (2010). Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respiratory research, 11*, 32.

Marnell, L., Mold, C., & Du Clos, T.W. (2005). C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. *Clinical immunology (Orlando, Fla.), 117*(2), 104–111.

Marnell, L.L., Mold, C., Volzer, M.A., Burlingame, R.W., & Du Clos, T.W. (1995). C-reactive protein binds to Fc gamma RI in transfected COS cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 155*(4), 2185–2193.

Martinez, D.G., Funderburg, N.T., Cerissi, A., Rifaie, R., Aviles-Medina, L., Llorens-Bonilla, B.J., et al. (2014). Lipopolysaccharide and Soluble CD14 in Cord Blood Plasma are associated with Prematurity and Chorioamnionitis. *Pediatric research, 75*(0), 67–74.

Matwiyoff, G.N., Prahl, J.D., Miller, R.J., Carmichael, J.J., Amundson, D.E., Seda, G., et al. (2012). Immune regulation of procalcitonin: a biomarker and mediator of infection. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society … [et al.], 61*(5), 401–409.

Maynard, S.E., Min, J.-Y., Merchan, J., Lim, K.-H., Li, J., Mondal, S., et al. (2003). Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *Journal of Clinical Investigation, 111*(5), 649–658.

McMillan, R., Longmire, R.L., Tavassoli, M., Armstrong, S., & Yelenosky, R. (1974). In vitro platelet phagocytosis by splenic leukocytes in idiopathic thrombocytopenic purpura. *The New England journal of medicine, 290*(5), 249–251.

Medzhitov, R. (2007). Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature, 449*(7164), 819–826.

Meisner, M. (2002). Pathobiochemistry and clinical use of procalcitonin. *Clinica Chimica Acta, 323*(1-2), 17–29.

Melincovici, C.S., Boşca, A.B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mihu, C., Istrate, M., et al. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie, 59*(2), 455–467.

Metcalfe, P., Watkins, N.A., Ouwehand, W.H., Kaplan, C., Newman, P., Kekomaki, R., et al. (2003). Nomenclature of human platelet antigens. *Vox sanguinis, 85*(3), 240–245.

Mihlan, M., Blom, A.M., Kupreishvili, K., Lauer, N., Stelzner, K., Bergström, F., et al. (2011). Monomeric C-reactive protein modulates classic complement activation on necrotic cells. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 25*(12), 4198–4210.

Mjelle, A.B., Guthe, H.J.T., Reigstad, H., Bjørke-Monsen, A.L., & Markestad, T. (2019). Serum concentrations of C-reactive protein in healthy term-born Norwegian infants 48-72 hours after birth. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992), 108*(5), 849–854.

Modderman, P.W., Admiraal, L.G., Sonnenberg, A., & Borne, A.E. von dem (1992). Glycoproteins V and Ib-IX form a noncovalent complex in the platelet membrane. *Journal of Biological Chemistry, 267*(1), 364–369.

Mold, C., Gewurz, H., & Du Clos, T.W. (1999). Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology, 42*(1-3), 23–30.

Monneret, G., Pachot, A., Laroche, B., Picollet, J., & Bienvenu, J. (2000). Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced tnf production by human circulating blood cells. *Cytokine, 12*(6), 762–764.

Moya, F., Nieto, A., & R-Candela, J.L. (1975). Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *European journal of biochemistry, 55*(2), 407–413.

Mueller-Eckhardt, C., Grubert, A., Weisheit, M., Mueller-Eckhardt, G., Kiefel, V., Kroll, H., et al. (1989). 348 CASES OF SUSPECTED NEONATAL ALLOIMMUNE THROMBOCYTOPENIA. *The Lancet, 333*(8634), 363–366.

Müller, B., White, J.C., Nylén, E.S., Snider, R.H., Becker, K.L., & Habener, J.F. (2001). Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 86*(1), 396–404.

Nedberg, N.H., Turowski, G., Guz, K., Przytuła, E., Uhrynowska, M., Roald, B., et al. (2021). Platelet alloimmunization is associated with low grade chronic histiocytic intervillositis - A new link to a rare placental lesion? *Placenta, 112*, 89–96.

Newman, K.C., & Riley, E.M. (2007). Whatever turns you on: accessory-cell-dependent activation of NK cells by pathogens. *Nature reviews. Immunology, 7*(4), 279–291.

Newman, P.J., Derbes, R.S., & Aster, R.H. (1989). The human platelet alloantigens, PlA1 and PlA2, are associated with a leucine33/proline33 amino acid polymorphism in membrane glycoprotein IIIa, and are distinguishable by DNA typing. *Journal of Clinical Investigation, 83*(5), 1778–1781.

Ni, H. (2018). Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: Novel mechanisms of miscarriage learned from placental pathology in animal models. *Journal of Pediatrics and Pediatric Medicine, 2*(1), 28–33.

Nurden, A.T. (2011). Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis, 105 Suppl 1*, S13-33.

Nurden, A.T. (2014). Platelet membrane glycoproteins: a historical review. *Seminars in thrombosis and hemostasis, 40*(5), 577–584.

Nylen, E.S., Whang, K.T., Snider, R.H., Steinwald, P.M., White, J.C., & Becker, K.L. (1998). Mortality is increased by procalcitonin and decreased by an antiserum reactive to procalcitonin in experimental sepsis. *Critical care medicine, 26*(6), 1001–1006.

Oberhoffer, M., Stonans, I., Russwurm, S., Stonane, E., Vogelsang, H., Junker, U., et al. (1999). Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 134*(1), 49–55.

O'Donnell, J.S., O'Sullivan, J.M., & Preston, R.J.S. (2019). Advances in understanding the molecular mechanisms that maintain normal haemostasis. *British journal of haematology, 186*(1), 24–36.

Ohto, H., Miura, S., Ariga, H., Ishii, T., Fujimori, K., & Morita, S. (2004). The natural history of maternal immunization against foetal platelet alloantigens. *Transfusion medicine (Oxford, England), 14*(6), 399–408.

Olofsson, B., Korpelainen, E., Pepper, M.S., Mandriota, S.J., Aase, K., Kumar, V., et al. (1998). Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) binds to VEGF receptor-1 and regulates plasminogen activator activity in endothelial cells. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences of the United States of America, 95(20), 11709–11714.

Olsson, A.-K., Dimberg, A., Kreuger, J., & Claesson-Welsh, L. (2006). VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nature reviews. Molecular cell biology, 7*(5), 359–371.

Pahal, G.S., Jauniaux, E., Kinnon, C., Thrasher, A.J., & Rodeck, C.H. (2000). Normal development of human fetal hematopoiesis between eight and seventeen weeks' gestation. *American journal of obstetrics and gynecology, 183*(4), 1029–1034.

Patout, M., Salaün, M., Brunel, V., Bota, S., Cauliez, B., & Thiberville, L. (2014). Diagnostic and prognostic value of serum procalcitonin concentrations in primary lung cancers. *Clinical biochemistry, 47*(18), 263–267.

PEASE, D.C. (1956). An Electron Microscopic Study of Red Bone Marrow. *Blood, 11*(6), 501–526.

Pepys, M.B., & Hirschfield, G.M. (2003). C-reactive protein: A critical update. *Journal of Clinical Investigation, 111*(12), 1805–1812.

Perrone, S., Lotti, F., Longini, M., Rossetti, A., Bindi, I., Bazzini, F., et al. (2018). C reactive protein in healthy term newborns during the first 48 hours of life. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition, 103*(2), F163-F166.

Poltorak, A., Smirnova, I., He, X., Liu, M.Y., van Huffel, C., McNally, O., et al. (1998). Genetic and physical mapping of the Lps locus: identification of the toll-4 receptor as a candidate gene in the critical region. *Blood cells, molecules & diseases, 24*(3), 340–355.

Radder, C.M., Brand, A., & Kanhai, H.H.H. (2003). Will it ever be possible to balance the risk of intracranial haemorrhage in fetal or neonatal alloimmune thrombocytopenia against the risk of treatment strategies to prevent it? *Vox sanguinis, 84*(4), 318–325.

Radke, L., Grohme, D., Lubitz, A., Giese, C., Wildenauer, F., & Frohme, M. (2010). *Etablierung verschiedener Bead-basierter Multiplexmethoden mit einem Suspensions Array-System für molekulardiagnostische Zwecke*.

Reinhart, K., Bauer, M., Riedemann, N.C., & Hartog, C.S. (2012). New approaches to sepsis: molecular diagnostics and biomarkers. *Clinical microbiology reviews, 25*(4), 609–634.

Reslova, N., Michna, V., Kasny, M., Mikel, P., & Kralik, P. (2017). xMAP Technology: Applications in Detection of Pathogens. *Frontiers in Microbiology, 8*.

Risau, W. (1997). Mechanisms of angiogenesis. *Nature, 386*(6626), 671–674.

ROBERT L. GAUER, & MICHAEL M. BRAUN (2012). Thrombocytopenia. *American Family Physician, 85*(6), 612–622.

Roopenian, D.C., & Akilesh, S. (2007). FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nature reviews. Immunology, 7*(9), 715–725.

Rousseau, J., Goldman, M., & David, M. (2004). HPA-5b (Bra) neonatal alloimmune thrombocytopenia in Quebec: incidence and clinical outcome in 31 cases. *Transfusion, 44*(6), 844–848.

Ruffini, F., Failla, C.M., Orecchia, A., Bani, M.R., Dorio, A.S., Fortes, C., et al. (2011). Expression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in cutaneous melanoma: role in tumour progression. *The British journal of dermatology, 164*(5), 1061–1070.

Ryu, J.-K., Kim, S.J., Rah, S.-H., Kang, J. in, Jung, H.E., Lee, D., et al. (2017). Reconstruction of LPS Transfer Cascade Reveals Structural Determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for Efficient LPS Recognition and Transfer. *Immunity, 46*(1), 38–50.

Sachs, U.J., Bakchoul, T., & Bein, G. (2012). Fetale und neonatale Alloimmunthrombozytopenie: Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie. *Transfusionsmedizin - Immunhämatologie, Hämotherapie, Immungenetik, Zelltherapie, 2*(02), 77–89.

Sainio, S., Javela, K., Tuimala, J., & Koskinen, S. (2013). Usefulness of maternal anti-HPA-1a antibody quantitation in predicting severity of foetomaternal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion medicine (Oxford, England), 23*(2), 114–120.

Samama, C.M., Djoudi, R., Lecompte, T., Nathan-Denizot, N., & Schved, J.-F. (2005). Perioperative platelet transfusion: recommendations of the Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS) 2003. *Canadian journal of anaesthesia = Journal canadien d'anesthesie, 52*(1), 30–37.

Santoro, S.A. (1986). Identification of a 160,000 dalton platelet membrane protein that mediates the initial divalent cation-dependent adhesion of platelets to collagen. *Cell, 46*(6), 913–920.

Santoso, S., Kalb, R., Walka, M., Kiefel, V., Mueller-Eckhardt, C., & Newman, P.J. (1993). The human platelet alloantigens Br(a) and Brb are associated with a single amino acid polymorphism on glycoprotein Ia (integrin subunit alpha 2). *Journal of Clinical Investigation, 92*(5), 2427–2432.

Santoso, S., & Kiefel, V. (1998). Human platelet-specific alloantigens: update. *Vox sanguinis, 74 Suppl 2*, 249–253.

Santoso, S., Kiefel, V., Richter, I.G., Sachs, U.J.H., Rahman, A., Carl, B., et al. (2002). A functional platelet fibrinogen receptor with a deletion in the cysteine-rich repeat region of the beta(3) integrin: the Oe(a) alloantigen in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Blood, 99*(4), 1205–1214.

Sasaki, K., Tsuji, T., Jinushi, T., Matsuzaki, J., Sato, T., Chamoto, K., et al. (2003). Differential regulation of VLA-2 expression on Th1 and Th2 cells: a novel marker for the classification of Th subsets. *International Immunology, 15*(6), 701–710.

Sauer, M., Doß, S., Ehler, J., Mencke, T., & Wagner, N.-M. (2017). Procalcitonin Impairs Liver Cell Viability and Function In Vitro: A Potential New Mechanism of Liver Dysfunction and Failure during Sepsis? *BioMed research international, 2017*, 6130725.

Schmitz, G., & Orsó, E. (2002). CD14 signalling in lipid rafts: new ligands and co-receptors. *Current opinion in lipidology, 13*(5), 513–521.

Schrödl, W., Büchler, R., Wendler, S., Reinhold, P., Muckova, P., Reindl, J., et al. (2016). Acute phase proteins as promising biomarkers: Perspectives and limitations for human and veterinary medicine. *Proteomics. Clinical applications, 10*(11), 1077–1092.

Shapiro, N.I., Yano, K., Okada, H., Fischer, C., Howell, M., Spokes, K.C., et al. (2008). A prospective, observational study of soluble FLT-1 and vascular endothelial growth factor in sepsis. *Shock (Augusta, Ga.), 29*(4), 452–457.

Shi, J., Zhao, Y., Wang, Y., Gao, W., Ding, J., Li, P., et al. (2014). Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature, 514*(7521), 187–192.

Simister, N.E., Story, C.M., Chen, H.L., & Hunt, J.S. (1996). An IgG-transporting Fc receptor expressed in the syncytiotrophoblast of human placenta. *European journal of immunology, 26*(7), 1527–1531.

Slichter, S.J. (2004). Relationship between platelet count and bleeding risk in thrombocytopenic patients. *Transfusion medicine reviews, 18*(3), 153–167.

Snir, A., Brenner, B., Paz, B., & Lanir, N. (2010). Presence of Integrin alpha(IIb)beta 3 in early gestation human trophoblasts: possible involvement of fibrin as a matrix ligand. *Thrombosis Research, 125*(3), 253–256.

Sola-Visner, M., & Bercovitz, R.S. (2016). Neonatal Platelet Transfusions and Future Areas of Research. *Transfusion medicine reviews*, 183–188.

Spencer, J.A., & Burrows, R.F. (2001). Feto-maternal alloimmune thrombocytopenia: a literature review and statistical analysis. *The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology, 41*(1), 45–55.

Sponholz, C., Sakr, Y., Reinhart, K., & Brunkhorst, F. (2006). Diagnostic value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature. *Critical care (London, England), 10*(5), R145.

Sproston, N.R., & Ashworth, J.J. (2018). Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in immunology, 9*, 754.

Staatz, W.D., Rajpara, S.M., Wayner, E.A., Carter, W.G., & Santoro, S.A. (1989). The membrane glycoprotein Ia-IIa (VLA-2) complex mediates the Mg++-dependent adhesion of platelets to collagen. *The Journal of cell biology, 108*(5), 1917–1924.

Statistisches Bundesamt (2019). Geburten in Deutschland. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Geburten/_inhalt.html. Zugegriffen: 25. Juli 2022.

Steinwald, Whang, Becker, Snider, Nylen, & White (1999). Elevated calcitonin precursor levels are related to mortality in an animal model of sepsis. *Critical care (London, England), 3*(1), 11–16.

Stockelberg, D., Hou, M., Rydberg, L., Kutti, J., & Wadenvik, H. (1996). Evidence for an expression of blood group A antigen on platelet glycoproteins IV and V. *Transfusion medicine (Oxford, England), 6*(3), 243–248.

Sullivan, J., Oswald, B.E., Vadasz, B., Li, J., Chen, P., Poncz, M., et al. (2017). Maternal Anti-αIIb Antibodies Target Fetal Hematopoietic Stem Cells and May Lead to Pancytopenia and Miscarriage in Fnait. *Blood, 130*(Supplement 1), 233.

Takada, Y., Ye, X., & Simon, S. (2007). The integrins. *Genome biology, 8*(5), 215.

Takahashi, T., Shirasawa, T., Miyake, K., Yahagi, Y., Maruyama, N., Kasahara, N., et al. (1995). Protein tyrosine kinases expressed in glomeruli and cultured glomerular cells: Flt-1 and VEGF expression in renal mesangial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 209*(1), 218–226.

Taylor, P.C. (2002). VEGF and imaging of vessels in rheumatoid arthritis. *Arthritis research, 4 Suppl 3*, S99-107.

Tchakarov, A., Coffey, A., & Tatevian, N. (2013). Neonatal alloimmune thrombocytopenia associated with massive chronic intervillositis: a case report and

review of the literature. *Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society, 16*(1), 32–34.

Teasdale, F., & Jean-Jacques, G. (1985). Morphometric evaluation of the microvillous surface enlargement factor in the human placenta from mid-gestation to term. *Placenta, 6*(5), 375–381.

Terman, B., Khandke, L., Dougher-Vermazan, M., Maglione, D., Lassam, N.J., Gospodarowicz, D., et al. (1994). VEGF receptor subtypes KDR and FLT1 show different sensitivities to heparin and placenta growth factor. *Growth factors (Chur, Switzerland), 11*(3), 187–195.

Thomas, C.P., Andrews, J.I., Raikwar, N.S., Kelley, E.A., Herse, F., Dechend, R., et al. (2009). A recently evolved novel trophoblast-enriched secreted form of fms-like tyrosine kinase-1 variant is up-regulated in hypoxia and preeclampsia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 94*(7), 2524–2530.

Thon, J.N., & Italiano, J.E. (2012). Platelets: production, morphology and ultrastructure. *Handbook of experimental pharmacology*(210), 3–22.

Tiller, H., Husebekk, A., Ahlen, M.T., Stuge, T.B., & Skogen, B. (2017). Current perspectives on fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia - increasing clinical concerns and new treatment opportunities. *International journal of women's health, 9*, 223–234.

Tiller, H., Kamphuis, M.M., Flodmark, O., Papadogiannakis, N., David, A.L., Sainio, S., et al. (2013). Fetal intracranial haemorrhages caused by fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: an observational cohort study of 43 cases from an international multicentre registry. *BMJ open, 3*(3).

Tiller, H., Killie, M.K., Husebekk, A., Skogen, B., Ni, H., Kjeldsen-Kragh, J., et al. (2012). Platelet antibodies and fetal growth: maternal antibodies against fetal platelet antigen 1a are strongly associated with reduced birthweight in boys. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica, 91*(1), 79–86.

Tiller, H.e.a. (2020). Alloimmunisering mot trombocytt-antigener (inkl FNAIT). https://www.legeforeningen.no/foreningsledd/fagmed/norsk-gynekologisk-forening/veiledere/veileder-i-fodselshjelp/Allomimmunisering-mot-trombocyttantigener/. Zugegriffen: 18. Januar 2021.

Tillett, W.S., & Francis, T. (1930). SEROLOGICAL REACTIONS IN PNEUMONIA WITH A NON-PROTEIN SOMATIC FRACTION OF PNEUMOCOCCUS. *The Journal of Experimental Medicine, 52*(4), 561–571.

Tiozzo, C., & Mukhopadhyay, S. (2022). Noninfectious influencers of early-onset sepsis biomarkers. *Pediatric research, 91*(2), 425–431.

Turner, D., Hammerman, C., Rudensky, B., Schlesinger, Y., Goia, C., & Schimmel, M.S. (2006). Procalcitonin in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition, 91*(4), F283-6.

Uhrynowska, M., Maslanka, K., & Zupanska, B. (1997). Neonatal thrombocytopenia: incidence, serological and clinical observations. *American journal of perinatology, 14*(7), 415–418.

Urbaniak, S.J., & Greiss, M.A. (2000). RhD haemolytic disease of the fetus and the newborn. *Blood reviews, 14*(1), 44–61.

Vadasz, B., Chen, P., Yougbaré, I., Zdravic, D., Li, J., Li, C., et al. (2015). Platelets and platelet alloantigens: Lessons from human patients and animal models of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Genes & diseases, 2*(2), 173–185.

van Gils, J.M., Stutterheim, J., van Duijn, T.J., Zwaginga, J.J., Porcelijn, L., Haas, M. de, et al. (2009). HPA-1a alloantibodies reduce endothelial cell spreading and monolayer integrity. *Molecular Immunology, 46*(3), 406–415.

van Maldeghem, I., Nusman, C.M., & Visser, D.H. (2019). Soluble CD14 subtype (sCD14-ST) as biomarker in neonatal early-onset sepsis and late-onset sepsis: a systematic review and meta-analysis. *BMC immunology, 20*(1), 17.

Vincenti, V., Cassano, C., Rocchi, M., & Persico, G. (1996). Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation, 93*(8), 1493–1495.

Volanakis, J. (2001). Human C-reactive protein: Expression, structure, and function. *Molecular Immunology, 38*(2-3), 189–197.

Volanakis, J.E. (1982). Complement activation by C-reactive protein complexes. *Annals of the New York Academy of Sciences, 389*, 235–250.

Volanakis, J.E., & Kaplan, M.H. (1971). Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.), 136*(2), 612–614.

Voller, S.B., Chock, S., Ernst, L.M., Su, E., Liu, X., Farrow, K.N., et al. (2014). Cord blood biomarkers of vascular endothelial growth (VEGF and sFlt-1) and postnatal growth: a preterm birth cohort study. *Early human development, 90*(4), 195–200.

Vos, T.W. de, Winkelhorst, D., Haas, M. de, Lopriore, E., & Oepkes, D. (2020). Epidemiology and management of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion and apheresis science : official journal of the World Apheresis Association : official journal of the European Society for Haemapheresis, 59*(1), 102704.

Vries, C. de, Escobedo, J.A., Ueno, H., Houck, K., Ferrara, N., & Williams, L.T. (1992). The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science (New York, N.Y.), 255*(5047), 989–991.

Wagner, C.L., Mascelli, M.A., Neblock, D.S., Weisman, H.F., Coller, B.S., & Jordan, R.E. (1996). Analysis of GPIIb/IIIa receptor number by quantification of 7E3 binding to human platelets. *Blood, 88*(3), 907–914.

Wagner, K.E., Martinez, J.M., Vath, S.D., Snider, R.H., Nylén, E.S., Becker, K.L., et al. (2002). Early immunoneutralization of calcitonin precursors attenuates the adverse physiologic response to sepsis in pigs. *Critical care medicine, 30*(10), 2313–2321.

Wagner, N.-M., van Aken, C., Butschkau, A., Bierhansl, L., Kellner, P., Schleusener, V., et al. (2017). Procalcitonin Impairs Endothelial Cell Function and Viability. *Anesthesia and analgesia, 124*(3), 836–845.

Wiedermann, F.J., Kaneider, N., Egger, P., Tiefenthaler, W., Wiedermann, C.J., Lindner, K.H., et al. (2002). Migration of human monocytes in response to procalcitonin. *Critical care medicine, 30*(5), 1112–1117.

Wiedmeier, S.E., Henry, E., Sola-Visner, M.C., & Christensen, R.D. (2009). Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system. *Journal of Perinatology, 29*(2), 130–136.

Wienzek-Lischka, S., Konig, I.R., Papenkort, E.-M., Hackstein, H., Santoso, S., Sachs, U.J., et al. (2017). HLA-DRB3*01:01 is a predictor of immunization against human platelet antigen-1a but not of the severity of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion, 57*(3), 533–540.

Williamson, L.M., Hackett, G., Rennie, J., Palmer, C.R., Maciver, C., Hadfield, R., et al. (1998). The Natural History of Fetomaternal Alloimmunization to the Platelet-Specific Antigen HPA-1a (PlA1, Zwa) as Determined by Antenatal Screening. *Blood, 92*(7), 2280–2287.

Winkelhorst, D., Kamphuis, M.M., Steggerda, S.J., Rijken, M., Oepkes, D., Lopriore, E., et al. (2019). Perinatal Outcome and Long-Term Neurodevelopment after Intracranial Haemorrhage due to Fetal and Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia. *Fetal diagnosis and therapy*, 184–191.

Winkelhorst, D., Murphy, M.F., Greinacher, A., Shehata, N., Bakchoul, T., Massey, E., et al. (2017). Antenatal management in fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review. *Blood, 129*(11), 1538–1547.

Winkelhorst, D., Vos, T.W. de, Kamphuis, M.M., Porcelijn, L., Lopriore, E., Oepkes, D., et al. (2020). HIP (HPA-screening in pregnancy) study: protocol of a nationwide, prospective and observational study to assess incidence and natural history of fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia and identifying pregnancies at risk. *BMJ open, 10*(7), e034071.

Wright, S.D., Ramos, R.A., Tobias, P.S., Ulevitch, R.J., & Mathison, J.C. (1990). CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science (New York, N.Y.), 249*(4975), 1431–1433.

Wu, W.-K., Georgiadis, A., Copland, D.A., Liyanage, S., Luhmann, U.F.O., Robbie, S.J., et al. (2015). IL-4 regulates specific Arg-1(+) macrophage sFlt-1-mediated inhibition of angiogenesis. *The American journal of pathology, 185*(8), 2324–2335.

Wu, Z., Zhang, Z., Lei, Z., & Lei, P. (2019). CD14: Biology and role in the pathogenesis of disease. *Cytokine & growth factor reviews, 48*, 24–31.

Yamazaki, Y., & Morita, T. (2006). Molecular and functional diversity of vascular endothelial growth factors. *Molecular diversity, 10*(4), 515–527.

Yougbaré, I., Lang, S., Yang, H., Chen, P., Zhao, X., Tai, W.-S., et al. (2015). Maternal anti-platelet β3 integrins impair angiogenesis and cause intracranial hemorrhage. *The Journal of clinical investigation, 125*(4), 1545–1556.

Yougbaré, I., Tai, W.-S., Zdravic, D., Oswald, B.E., Lang, S., Zhu, G., et al. (2017). Activated NK cells cause placental dysfunction and miscarriages in fetal alloimmune thrombocytopenia. *Nature communications, 8*(1), 224.

Yu, B., & Wright, S.D. (1996). Catalytic properties of lipopolysaccharide (LPS) binding protein. Transfer of LPS to soluble CD14. *Journal of Biological Chemistry, 271*(8), 4100–4105.

Zanoni, I., & Granucci, F. (2013). Role of CD14 in host protection against infections and in metabolism regulation. *Frontiers in cellular and infection microbiology, 3*, 32.

Zanoni, I., Ostuni, R., Barresi, S., Di Gioia, M., Broggi, A., Costa, B., et al. (2012). CD14 and NFAT mediate lipopolysaccharide-induced skin edema formation in mice. *The Journal of clinical investigation, 122*(5), 1747–1757.

Zanoni, I., Ostuni, R., Capuano, G., Collini, M., Caccia, M., Ronchi, A.E., et al. (2009). CD14 regulates the dendritic cell life cycle after LPS exposure through NFAT activation. *Nature, 460*(7252), 264–268.

Zanoni, I., Ostuni, R., Marek, L.R., Barresi, S., Barbalat, R., Barton, G.M., et al. (2011). CD14 controls the LPS-induced endocytosis of Toll-like receptor 4. *Cell, 147*(4), 868–880.

Zanoni, I., Tan, Y., Di Gioia, M., Springstead, J.R., & Kagan, J.C. (2017). By Capturing Inflammatory Lipids Released from Dying Cells, the Receptor CD14 Induces Inflammasome-Dependent Phagocyte Hyperactivation. *Immunity, 47*(4), 697-709.e3.

Zdolsek, H.A., & Jenmalm, M.C. (2004). Reduced levels of soluble CD14 in atopic children. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 34*(4), 532–539.

Zdravic, D., Yougbare, I., Vadasz, B., Li, C., Marshall, A.H., Chen, P., et al. (2016). Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Seminars in fetal & neonatal medicine, 21*(1), 19–27.

Zeisler, H., Llurba, E., Chantraine, F., Vatish, M., Staff, A.C., Sennström, M., et al. (2016). Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *New England Journal of Medicine, 374*(1), 13–22.

10.2 Erlaubnis zur Nutzung von Abbildungen anderer Arbeiten

- Abbildung 1 ist entnommen aus: Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. Cell Mol Life Sci. 2021;78(4):1233–1261. doi: 10.1007/s00018-020-03656-y. Die Verwendung erfolgt gemäß der Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) Lizenz und mit dem Einverständnis der Autoren

11. Publikationsverzeichnis

David Böhm, Sandra Wienzek-Lischka, Nina Cooper, Heike Berghöfer, Katja Müller, Behnaz Bayat, Gregor Bein, Ulrich J Sachs: Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: No evidence of systemic inflammation as a modulator of disease severity. Could placental inflammation be key? In: British Journal of Haematology. 2023; 203(2):304-310.

12. Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

_____ _____

Ort, Datum Unterschrift

13. Danksagung

Zuallererst möchte ich Prof. Dr. med. Gregor Bein meinen tief empfundenen Dank aussprechen. Als ursprünglicher Doktorvater und langjähriger Direktor des Instituts für Klinische Immunologie und Transfusionsmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen hat er mir nicht nur den Weg in die wissenschaftliche Arbeit geebnet, sondern mich mit seinem Vertrauen, seiner fachlichen Klarheit und seiner menschlichen Offenheit nachhaltig geprägt. Seine Unterstützung in der frühen Phase dieses Projekts hat wesentlich dazu beigetragen, dass diese Arbeit ihren Anfang nehmen konnte.

Mein besonderer Dank gilt Univ.-Prof. Dr. med. Ulrich J. Sachs, dem jetzigen Institutsleiter und meinem betreuenden Doktorvater. Seine beeindruckende Expertise im Bereich der Immunhämatologie sowie sein unermüdlicher wissenschaftlicher Anspruch waren für mich Inspiration und Orientierung zugleich. Ich bin sehr dankbar für seine Geduld, seine fachlich präzisen Rückmeldungen und seine kontinuierliche Begleitung, die diese Arbeit maßgeblich bereichert haben.

Ebenso möchte ich Dr. med. Nina Cooper von Herzen danken, deren Unterstützung weit über das fachliche Betreuungsverhältnis hinausging. Ihre stets offene Tür, ihre Bereitschaft zur Diskussion und ihr wertschätzender Umgang haben mir den Forschungsalltag erheblich erleichtert. Mit ihrer Expertise und ihrem Engagement war sie eine unverzichtbare Unterstützung im Verlauf dieser Arbeit.

Mein aufrichtiger Dank gilt zudem dem gesamten Team der Immunologie Gießen, insbesondere dem Laborteam, dessen tatkräftige Hilfe die Durchführung der Experimente überhaupt erst ermöglicht hat. Die Professionalität, Präzision und Geduld, mit der jedes einzelne Experiment begleitet wurde, haben diese Dissertation in entscheidendem Maße getragen.

Schließlich möchte ich mich von ganzem Herzen bei meiner Freundin Sarah Steckdaub bedanken. Sie hat mich in diesem Projekt unterstützt, mit Verständnis, Motivation, Geduld und aufrichtiger Liebe. Ihr Zuspruch, ihre Stärke und ihr unerschütterlicher Rückhalt haben einen bedeutenden Anteil daran, dass diese Dissertation vollendet werden konnte.

Allen genannten wie auch den vielen kleinen und großen Beiträgen im Hintergrund gilt mein tief empfundener Dank.