

## THROMBOZYTOPENIE

# Differentialdiagnose von Thrombozytopenien

### Thrombozytopenie und automatisierte Thrombozytenmessung

Weist eine Person eine abnorm niedrige Konzentration der Thrombozyten unterhalb des Referenzbereiches auf, spricht man von Thrombozytopenie. Bei besonders schwerer Thrombozytopenie mit Konzentrationen unterhalb  $20 \times 10^9/\mu\text{L}$  besteht das Risiko spontaner Blutungen. Eine schwere Thrombozytopenie zu übersehen kann schwerwiegende Konsequenzen für die Person haben. Die zuverlässige Bestimmung der Thrombozytenkonzentration ist daher von essentieller Bedeutung, um klinisch wichtige Entscheidungen zu treffen.

### Ätiologie der Thrombozytopenie

Auch wenn Thrombozytopenie durch niedrige Thrombozytenkonzentrationen definiert ist, erklären diese allein nicht die zugrundeliegenden Ursachen, die entweder erblich bedingt oder erworben sein können. Diese Ursachen lassen sich grob in zwei Hauptgruppen einteilen: eine verringerte Neuproduktion im Knochenmark oder ein erhöhter Abbau bzw. Verbrauch im peripheren Blut. Die klinische Fragestellung liegt häufig darin, festzustellen, ob der Thrombozytopenie ein Knochenmarkversagen zugrunde liegt, wie es bei Aplastischer Anämie (AA) oder dem Myelodysplastischen Syndrom (MDS) beobachtet wird,

oder ob ein erhöhter Abbau/Verbrauch vorliegt, wie es bei Immunthrombozytopenie (ITP), Thrombotisch-thrombozytopenischer Purpura (TTP) oder der Disseminierten Intravasalen Koagulopathie (DIC) der Fall ist. Gewöhnlich werden invasive Knochenmarkbiopsien empfohlen, um die Ursache klarzustellen.

### Differentialdiagnose der Thrombozytopenie

Die Differentialdiagnose von Thrombozytopenie ist komplex und erfordert eine Untersuchung der Krankengeschichte der Patientinnen und Patienten, eine Bewertung der klinischen Symptome, funktionelle Thrombozytentests und eine Beurteilung der blutbasierten Thrombozytenparameter. Historisch gesehen haben einige Ärztinnen und Ärzte das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV) als Ersatzmarker für die Thrombozytenproduktion verwendet, da unreife Thrombozyten tendenziell größer sind als reife Thrombozyten. Allerdings kann das Vorhandensein von Schistozysten, Mikrozyten oder anderen Partikeln mit einem Volumen ähnlich dem der Thrombozyten das MPV unzuverlässig machen. Zudem sind MPV-Werte ungenau oder in bestimmten Fällen unmöglich zu bestimmen, insbesondere in Proben mit sehr niedrigen Thrombozytenzahlen, bei denen Informationen zur Thrombozytenproduktion am dringendsten benötigt werden.

Februar 2024

Die Fraktion der unreifen Thrombozyten (IPF) ist ein besserer Marker für die Thrombozytenproduktion und gibt den Prozentsatz der unreifen Thrombozyten im Verhältnis zur Gesamtzahl der PLT. Sie wurde 1992 von Ault *et al.* beschrieben, die den Begriff „retikulierte Thrombozyten“ prägten, um neu freigesetzte Thrombozyten mit erhöhtem RNA-Gehalt zu beschreiben, deren Anzahl mit der megakaryozytären Aktivität korrelierte [1]. IPF ist ein reproduzierbarer Parameter, der gut mit der Anzahl der retikulierten Thrombozyten korreliert, die mit Hilfe der CD61-Durchflusszytometrie ermittelt werden [2]. Obwohl nur eine teilweise Korrelation mit dem MPV besteht, sind unreife Thrombozyten tendenziell größer als reife Thrombozyten: Eine Studie ergab, dass 61% der retikulierten Thrombozyten im Terzil mit den größten Thrombozyten lagen, während 32% und 7% im mittleren bzw. kleinen Terzil lagen [3]. Darüber hinaus sind unreife Thrombozyten reaktiver als reife Thrombozyten. Sie enthalten höhere Mengen an RNA und sind in der Lage, verschiedene für aktive Thrombozyten typische Proteine zu produzieren (z. B. GPIIb/IIIa, P-Selektin) [3].

### IPF Referenzbereiche

Mehrere Studien haben Referenzbereiche für die IPF auf den Sysmex XE- und XN-Serien festgelegt [4–12]. Generell zeigen diese Studien eine gute Konsistenz. Eine kürzlich durchgeführte umfassende Studie mit 12.782 Blutproben von gesunden niederländischen Personen etablierte Referenzbereiche für IPF im Bereich von 1,2–8,9% [13]. Eine andere Studie hat Referenzbereiche für IPF bei Neugeborenen festgelegt: 0,7–7,9% [14]. Referenzbereiche sollten allerdings stets auf Eignung in einer bestimmten Patientengruppe gemäß der von der International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine empfohlenen Methode überprüft werden [15].

Eine Thrombozytopenie mit erhöhter IPF kann auf eine gesteigerte Zerstörung im peripheren Blut, den Verlust von Thrombozyten oder eine erbliche Makrothrombozytopenie hinweisen [2, 5, 10–12, 16–20, 22].

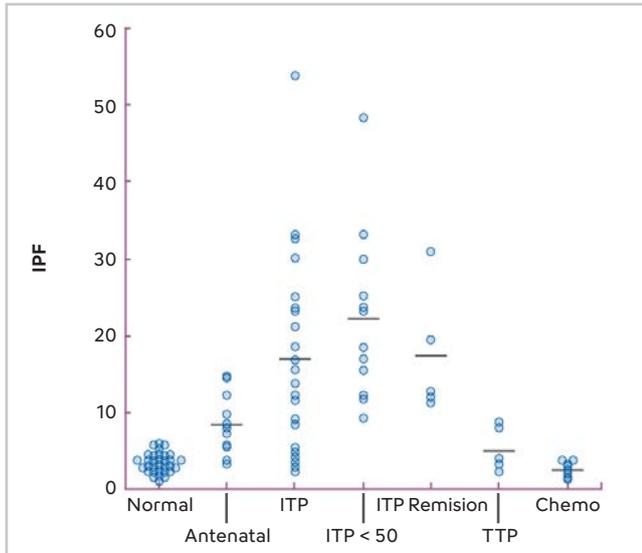
Eine Thrombozytopenie mit normaler oder verminderter IPF kann auf eine verminderte Thrombozytenproduktion im Knochenmark hinweisen [2, 5, 10–12, 16–20].

Mehrere Veröffentlichungen berichten, dass die IPF, die von den Analysesystemen der Sysmex XE- und XN-Serien ermittelt wurde, bei Personen mit Thrombozytopenie aufgrund übermäßiger Zerstörung/Verbrauch von Thrombozyten höher ist als bei Personen mit Thrombozytopenie aufgrund verminderte Thrombozytenproduktion im Knochenmark [2, 5, 10–12, 16–20].

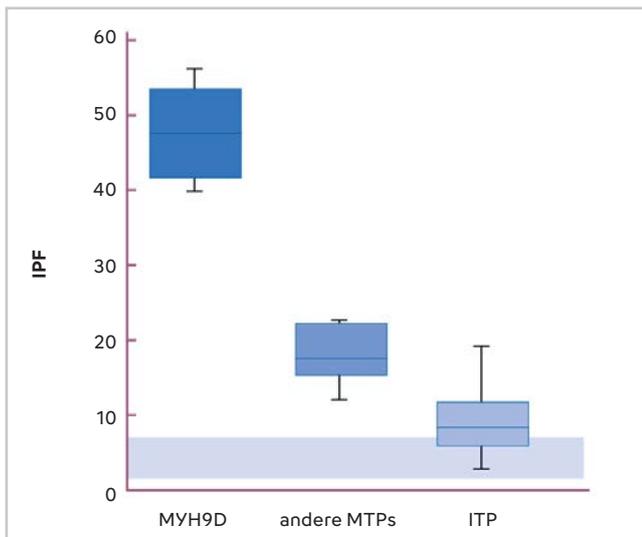
### Beispiele:

- Briggs *et al.* untersuchten Erkrankte mit ITP und TTP, die beide durch übermäßigen Verbrauch von Thrombozyten verursacht werden. Die IPF-Werte waren bei diesen beiden Patientengruppen deutlich erhöht, während Erkrankte unter Chemotherapie (was eine verminderte Produktion von Thrombozyten im Knochenmark verursacht), sowie ITP- und TTP-Erkrankte in Remission normale IPF-Werte aufwiesen (Abb. 1) [10].
- Kickler *et al.* berichteten über hohe IPF-Werte bei thrombozytopenischen Erkrankten mit erhöhtem Thrombozytenabbau, während normale bis leicht erhöhte Werte bei Erkrankten mit verminderter Thrombozytenproduktion beobachtet wurden (Tabelle 1) [11].
- Abe *et al.* verwendeten einen Schwellenwert von 7,7%, was zu einer Sensitivität von 86,8% und einer Spezifität von 92,6% für die differenzierte Diagnose von ITP und AA führte. Darüber hinaus erwies sich IPF als nützlicher als das mittlere Thrombozytenvolumen [16].
- Jung *et al.* fanden heraus, dass IPF bei ITP-Erkrankten höher ist als bei AA-Erkrankten und dass ein Schwellenwert von 7,3% zur Unterscheidung zwischen ITP und AA verwendet werden könnte, was zu einer Sensitivität von 54,0% und einer Spezifität von 92,2% führte [12]. (Die geringere Sensitivität im Vergleich zur Studie von Abe *et al.* könnte auf unterschiedliche Patientengruppen zurückzuführen sein: Erkrankte mit akuter ITP haben typischerweise einen hohen IPF-Wert, während Erkrankte in Remission auch einen normalen IPF-Wert haben können.)
- Strauss *et al.* untersuchten Kinder mit Thrombozytopenie und stellten fest, dass IPF bei Kindern mit Defekten in der Thrombozytenproduktion niedrig war, während es bei ITP-Erkrankten deutlich erhöht war, was auf einen beschleunigten Abbau der Thrombozyten hindeutet [18].
- Sakuragi *et al.* stellten fest, dass der IPF-Wert der XN-Serie eine höhere Präzision aufwies und von weniger Störungen beeinflusst wurde als IPF der XE-Serie. Die Verwendung eines Schwellenwerts von 5,8% führte zu einer Sensitivität von 85,1% und einer Spezifität von 89,3% zur Unterscheidung zwischen ITP und aplastischer Thrombozytopenie [20].

Februar 2024



**Abb. 1:** IPF-Werte in verschiedenen Patientengruppen. ITP: Immunthrombozytopenie; ITP < 50: ITP-Erkrankte mit einer Thrombozytenzahl unter  $50 \times 10^9/L$ ; TTP: Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura; Chemo: Erkrankte unter Chemotherapie. Angepasst von Briggs *et al.* [10].



**Abb. 2:** IPF-Werte in verschiedenen Patientengruppen. MYH9D: MYH9-Erkrankungen; MTPs: Makrothrombozytopenien; ITP: Immunthrombozytopenie. Angepasst von Miyazaki *et al.* [22].

Zusammenfassend: Der IPF-Parameter ermöglicht eine Beurteilung der Thrombozytenproduktion im Knochenmark und unterstützt die Unterscheidung zwischen Thrombozytopenie aufgrund einer verminderten Produktion im Knochenmark und Thrombozytopenie aufgrund erhöhter Zerstörung/Verbrauch. Er liefert zusätzliche Informationen, die bei der differenzierten Diagnose von Thrombozytopenie hilfreich sein könnten.

**Tabelle 1:** IPF-Werte in verschiedenen Patientengruppen.

ITP: Immunthrombozytopenie; DIC: disseminierte intravaskuläre Gerinnung; AA: aplastische Anämie; PNH: paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie; NS: Nicht statistisch signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe. Angepasst von Kickler *et al.* [11].

Proband	Probenumfang	Mittelwert	p*
<b>Gesunde</b>	80	3,1	–
<b>Abbau</b>			
ITP	37	15,0	<,0001
DIC	25	9,5	<,0001
Abbau gesamt	62	12,8	<,0001
<b>Verminderte Produktion</b>			
AA/PNH	3	6,1	,019
Tumore	16	3,8	NS
Alle	19	4,1	,05

\* Statistischer p-Wert im Vergleich zu gesunden Kontrollen

## Die Bedeutung von IPF für die Differentialdiagnose von erblicher Thrombozytopenie

Der IPF-Wert kann ebenfalls zur Differentialdiagnose von vermuteter angeborener Thrombozytopenie beitragen. Eine angeborene Thrombozytopenie wird üblicherweise vermutet, wenn es zu neonataler Thrombozytopenie kommt, Blutungsanzeichen in der Kindheit auftreten, eine Familienanamnese von Thrombozytopenie besteht oder wenn die Thrombozytenzahl nicht auf die ITP-Behandlung anspricht. Das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV) wird häufig zur Differentialdiagnose von erblicher Thrombozytopenie verwendet [21], aber, wie zuvor erwähnt, wird das MPV durch Störungen beeinflusst und sein Wert ist in Proben mit sehr niedrigen Thrombozytenzahlen oft ungenau oder unmöglich zu bestimmen.

Mehrere Veröffentlichungen beschreiben, wie IPF zur Differentialdiagnose von angeborener Thrombozytopenie beitragen kann. Zum Beispiel zeigte Miyazaki *et al.*, dass IPF bei May-Hegglin MYH9-Erkrankungen etwa fünfmal höher war ( $48,6\% \pm 1,9$ ), und bei anderen Makrothrombozytopenie-Erkrankungen etwa doppelt so hoch ( $18,4\% \pm 2,1$ ) im Vergleich zu ITP-Erkrankten mit ähnlichen Thrombozytenzahlen ( $9,2\% \pm 0,3$ ) (Abb. 2) [22]. Im Gegensatz dazu hatten Erkrankte mit Wiskott-Aldrich-kongenitaler Mikrothrombozytopenie (WAS) eine niedrigere IPF als für ihr Niveau der Thrombozytopenie zu erwarten wäre, und die IPF bei diesen Patienten war niedriger als bei ITP-Erkrankten [23]. Ähnliche Befunde wurden bei sieben Kindern mit WAS berichtet, die eine niedrigere absolute IPF-Zahl aufwiesen als altersentsprechende chronische ITP-Patienten [24].

## Herausforderungen bei der Bestimmung einer genauen und präzisen Thrombozytenzahl

Automatisierte Hämatologie-Analysesysteme liefern im Allgemeinen eine genaue und präzise Messung der Thrombozytenzahlen basierend auf der Impedanzmethode (PLT-I). Allerdings können störende Partikel zu fälschlich hohen Zählungen führen. Ebenso kann die Präzision eingeschränkt sein, wenn Personen an schwerer Thrombozytopenie leiden ( $PLT \leq 20 \times 10^9/L$ ), da die niedrige Thrombozytenzahl die Anzahl der analysierten Zellen begrenzt. Um dieses Problem zu lösen, können Sysmex Analysatoren der XR- und XN-Serie bei Verdacht auf störende Partikel oder schwere Thrombozytopenie Reflexmessungen mit alternativen Durchflusszytometrie-Methoden (PLT-O oder PLT-F) durchführen (Tabelle 2).

In Analysatoren der XR- und XN-Serie, die mit PLT-I und PLT-O ausgestattet sind, bestimmt ein Umschaltalgorithmus automatisch, ob eine PLT-O Reflexmessung

erforderlich ist, um eine genaue PLT-Zählung zu melden. Bei Analysatoren mit PLT-I und PLT-F kann eine PLT-F Reflexmessung erforderlich sein und wird entsprechend durchgeführt. Insbesondere wenn eine schwere Thrombozytopenie vermutet wird, ist eine präzisere Messung erforderlich, um zuverlässige Ergebnisse für klinisch wichtige Entscheidungen zu erhalten. Hier wäre PLT-F die bevorzugte Methode.

Eine hohe IPF deutet auf konsumptive thrombozytopenische Störungen oder angeborene Makrothrombozytopenien hin und kann auch eine angemessene Knochenmarkantwort auf die Thrombozytopenie anzeigen. Im Gegensatz dazu zeigt ein niedriger oder normaler IPF-Wert einen Zusammenhang mit aplastischen Zuständen (Tabelle 3). IPF-Messungen können für bestimmte Patientenpopulationen angefordert oder als Reflextest für unbekannte Patientinnen und Patienten mit unklarer Thrombozytopenie durchgeführt werden.

**Tabelle 2** Vergleich verschiedener Methoden zur Thrombozytenzählung auf der Sysmex XR- und XN-Serie.

	Impedanzzählung (PLT-I)	Optische Zählung (PLT-O)	Fluoreszenz-Zählung (PLT-F)
<b>Workflow</b>	Standard- und Routine-Methode	Reflex-Methode	Reflex-Methode
<b>Analyse</b>	Teil des großen Blutbildes	Teil der Retikulozytenmessung	Spezielle PLT-F-Messung
<b>Präzision, Genauigkeit und Störeinflüsse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Niedrige Präzision bei <math>PLT &lt; 20 \times 10^9/L</math></li> <li>Niedrige Genauigkeit bei Proben mit Störfaktoren: Enthält Partikel mit einem Volumen ähnlich dem von Thrombozyten (Reagenz-kristalle, Luftblasen, Mikrozyten, RBC-Fragmente)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Niedrige Präzision bei <math>PLT &lt; 20 \times 10^9/L</math></li> <li>Hohe Genauigkeit bei Vorliegen von RBC-Abnormalitäten</li> <li>Niedrige Genauigkeit bei Proben mit WBC-Fragmenten (Apoptose/ Nekrose)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Hohe Präzision bis zu <math>PLT = 3 \times 10^9/L</math> aufgrund des fünffachen Zählvolumens</li> <li>Praktisch keine Störfaktoren</li> <li>Vergleichbar mit Referenzmethode (CD41/CD61) [25, 26]</li> </ul>
<b>Diagnostische Parameter jenseits der Thrombozytenzahl</b>	PDW, MPV, PCT, P-LCR	Keine	IPF, IPF#

**Tabelle 3** Ätiologie der Thrombozytopenie und zugehörige IPF-Werte. Die Bereiche in der Tabelle basieren auf der Literatur [13, 22] und dienen nur als Richtlinie. Die Interpretation der IPF sollte immer im gesamten klinischen Kontext erfolgen, einschließlich klinischer Symptome und anderer Labortests.

Erworben	Erblich	
Unzureichende Thrombozyten-Neubildung	Verstärkter Abbau/Verbrauch	Erbliche Makrothrombozytopenie
IPF 1,2 – 8,9%	IPF > 8,9%	IPF > 12%
<b>Beeinträchtigung des Knochenmarks</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Knochenmarkinfiltration durch Neoplasien</li> <li>Aplastische Anämie durch Chemikalien, Medikamente oder Infektionen</li> <li>Chronische ITP mit apoptotischen Megakaryozyten</li> </ul>	<b>Immun-vermittelte Ursachen</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Immunthrombozytopenie (ITP)</li> <li>Heparininduzierte Thrombozytopenie (HIT) Typ II</li> </ul>	<b>IPF &gt; 12%</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Bernard-Soulier-Syndrom</li> <li>ACTN1-bedingte Thrombozytopenie</li> <li><math>\alpha\delta</math>-Speicherpoolkrankheit</li> <li>Variante der Glanzmann-Thrombasthenie</li> </ul>
<b>Unzureichende Produktion</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Megaloblastäre Anämie</li> </ul>	<b>Nicht immun-vermittelte Ursachen</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP)</li> <li>Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)</li> <li>Disseminierte intravaskuläre Gerinnung (DIC)</li> <li>HIT Typ I</li> <li>Blutungen</li> </ul>	<b>IPF &gt; 40%</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>May-Hegglin MYH9 Erkrankungen</li> </ul>

## Literatur

- [1] **Ault A et al. (1992):** The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis. *Am J Clin Pathol.* 98(6): 637–46.
- [2] **Pons I et al. (2010):** Correlation between immature platelet fraction and reticulated platelets. Usefulness in the etiology diagnosis of thrombocytopenia. *Eur J Haematol.* 85(2): 158–63.
- [3] **Guthikonda S et al. (2008):** Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 52(9): 743–9.
- [4] **Zucker MJ et al. (2006):** Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation. *Lab Hematol.* 12(3): 125–30.
- [5] **Cho YG et al. (2007):** Clinical usefulness of the simple technique to diagnose thrombocytopenia using immature platelet fraction. *Korean J Lab Med.* 27(1): 1–6.
- [6] **Pekelharing JM et al. (2010):** Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex J Int.* 20(1): 1–11.
- [7] **Ko YJ et al. (2013):** Establishment of reference interval for immature platelet fraction. *Int J Lab Hematol.* 35(5): 528–33.
- [8] **Systemex Corporation (2014):** Reference ranges analysis document for XN-Series.
- [9] **Seo A et al. (2015):** Reference intervals for immature platelet fraction and immature platelet count. *Int J Lab Hematol.* 37(1): e1–2.
- [10] **Briggs C et al. (2004):** Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 126(1): 93–9.
- [11] **Kickler T et al. (2006):** A clinical evaluation of high fluorescent platelet fraction percentage in thrombocytopenia. *Am J Clin Pathol.* 125(2): 282–7.
- [12] **Jung H et al. (2010):** Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia. *Korean J Lab Med.* 30(5): 451–9.
- [13] **L van Pelt J et al. (2022):** Reference intervals for Sysmex XN hematological parameters as assessed in the Dutch Lifelines cohort. *Clin Chem Lab Med.* 60(6): 907–920.
- [14] **Cremer M et al. (2004):** Immature platelet fraction as novel laboratory parameter predicting the course of neonatal thrombocytopenia. *Br J Haematol.* 144(4): 619–21.
- [15] **Solberg HE. (2004):** The IFCC recommendation on the estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med.* 42(7): 710–4.
- [16] **Abe Y et al. (2006):** A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). *Thromb Res.* 118(4): 463–9.
- [17] **Cannavo I et al. (2010):** Assessment of an immature platelet fraction (IPF%) in the diagnosis of thrombocytopenia. *Ann Biol Clin (Paris).* 68(4): 415–20.
- [18] **Strauss G et al. (2011):** Immature platelet count: a simple parameter for distinguishing thrombocytopenia in pediatric acute lymphocytic leukemia from immune thrombocytopenia. *Pediatr Blood Cancer.* 57(4): 641–7.
- [19] **Adly AA et al. (2015):** Evaluation of the immature platelet fraction in the diagnosis and prognosis of childhood immune thrombocytopenia. *Platelets.* 26(7): 645–50.
- [20] **Sakuragi M et al. (2015):** Clinical significance of IPF% or RP% measurement in distinguishing primary immune thrombocytopenia from aplastic thrombocytopenic disorders. *Int J Hematol.* 101(4): 369–75.
- [21] **Cremer M et al. (2016):** Thrombocytopenia and platelet transfusion in the neonate. *Semin Fetal Neonatal Med.* 21(1): 10–8.
- [22] **Miyazaki K et al. (2015):** Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia. *Hematology.* 20(10): 587–92.
- [23] **Sokolic R et al. (2015):** Assessment of immature platelet fraction in the diagnosis of Wiskott-Aldrich syndrome. *Front Pediatr.* 3: 1–10.
- [24] **Gerrits AJ et al. (2015):** Effects of eltrombopag on platelet count and platelet activation in Wiskott-Aldrich syndrome/X-linked thrombocytopenia. *Blood* 126(11): 1367–78.
- [25] **Tanaka Y et al. (2014):** Performance Evaluation of Platelet Counting by Novel Fluorescent Dye Staining in the XN-Series Automated Hematology Analyzers. *J Clin Lab Anal.* 28(5): 341–8.
- [26] **Park S et al. (2014):** The Sysmex XN-2000 Hematology Autoanalyzer Provides a Highly Accurate Platelet Count than the Former Sysmex XE-2100 System Based on Comparison with the CD41/CD61 Immunoplatelet Reference Method of Flow Cytometry. *Ann Lab Med.* 34(6): 471–4.

Weitere Literatur finden Sie auf unserer Webseite unter:

[www.sysmex.de/whitepaper](http://www.sysmex.de/whitepaper)

[www.sysmex.ch/whitepaper](http://www.sysmex.ch/whitepaper)

[www.sysmex.at/whitepaper](http://www.sysmex.at/whitepaper)