

GTH | Akademie Highlights 2019

Aktuelle Entwicklungen
in der Hämostaseologie

15.–16. März 2019
HCC Hannover
Congress Centrum

Zertifiziert mit 13 CME-Punkten



Gesellschaft für
Thrombose-
und Hämostase-
forschung e.V.



Inhaltsverzeichnis

Grußwort
Wissenschaftliches Programm
Referentenverzeichnis
Evaluation Highlights 2019

Vorträge der Referenten:

Labordiagnostik Prof. Dr. Bernd Pötzsch	1
Von-Willebrand-Erkrankung Prof. Dr. Johanna Kremer Hovinga	2
Hämophilie A und B Prof. Dr. Christoph Male	3
Innovative Hämophilie-Therapien: Klinische Studien Prof. Dr. Andreas Tiede	4
Angeborene Thrombozytopenie/pathie Prof. Dr. Barbara Zieger	5
Medikamentös bedingte Thrombozytenfunktionsstörungen PD Dr. Thomas Thiele	6
Innovative Therapien: Präklinische Entwicklungen Prof. Dr. Dr. Thomas Renné	7
Antithrombotische Differenzialtherapie Thrombozytenhemmung Prof. Dr. Daniel Dürschmied	8
Antikoagulation PD Dr. Jan Beyer-Westendorf	9
Thrombose und Lungenembolie Prof. Dr. Ingrid Pabinger	10
Thrombophilie in der Schwangerschaft Dr. Ute Scholz	11
Heparin-induzierte Thrombozytopenie Prof. Dr. Andreas Greinacher	12
Nicht alltäglich: Interaktive Falldemonstration Prof. Dr. Bettina Kemkes-Matthes	13

Grußwort

Liebe Kolleginnen und Kollegen!

Herzlich willkommen zu unserer ersten GTH Highlights Fortbildung vom 15. bis 16. März 2019 in Hannover. Vor uns liegen zwei Tage intensiver Beschäftigung mit den aktuellen Entwicklungen in der Hämostaseologie. Ich freue mich, dass Sie sich die Zeit für unsere Fortbildung nehmen, und ich weiß, dass dies im immer hektischer werdenden klinischen Alltag keine Selbstverständlichkeit ist.

Warum Highlights?

Die Hämostaseologie gilt als kleines Fach, entwickelt sich aber rasant und hat wichtige Interaktionen mit praktisch allen großen klinischen Fächern. Profundes und aktuelles Wissen in der Hämostaseologie ist in vielen medizinischen Fachbereichen wichtig. Gleichzeitig müssen sich auch ausgewiesene Hämostaseologen immer wieder mit den Entwicklungen benachbarter Fächer auseinandersetzen, um kompetent beraten zu können. Hier wollen wir ansetzen: Wir präsentieren als **Highlights** die wichtigsten aktuellen Schlüsselpublikationen der Hämostaseologie – für die Fachärztinnen und -ärzte der Hämostaseologie und benachbarter Richtungen – und betten diese ein in eine systematische und praxistaugliche Darstellung des gesamten Fachgebiets.

Was dürfen Sie erwarten?

Unser Steering-Committee hat zu jedem Teilbereich der Hämostaseologie besonders erfahrene, wissenschaftlich und klinisch aktive Kolleginnen und Kollegen als Referenten ausgewählt. Der vor Ihnen liegende Tagungsordner enthält zu jedem Referat eine Übersicht zum State-of-the-Art, gefolgt von den Schlüsselpublikationen, die unsere Referenten als **Highlights** ausgewählt haben. Während und nach den Vorträgen haben Sie Gelegenheit zu Fragen und Diskussion. Und sollten Sie Interesse an den Präsentationen unserer Referenten haben, werden wir Ihnen diese nach der Veranstaltung im Internet passwortgeschützt zur Verfügung stellen.

Die Entwicklung geht weiter!

Wir freuen uns auf Ihre Rückmeldung zu den ersten Highlights und bitten Sie deshalb besonders, die ausliegenden Evaluationsbögen auszufüllen. Die nächsten Highlights sind bereits in Planung und werden in Kürze angekündigt. Denn auch im vor uns liegenden Jahr wird es in allen Bereichen der Hämostaseologie neue und praxisrelevante Entwicklungen geben. Ihre Anregungen dazu sind uns sehr willkommen. Besonders interessiert uns, welche Schwerpunktthemen Sie sich für künftige Veranstaltungen wünschen.

Im Namen des GTH-Vorstands und auch persönlich möchte ich mich bei unserem Steering-Committee, den Referenten und Sponsoren bedanken. Ein besonderer Dank geht an das Team der GTH-Geschäftsstelle, das mich bei der Organisation unserer ersten Highlights mit vollem Einsatz unterstützt hat.

Ich wünsche uns zwei spannende und lehrreiche Tage und freue mich schon heute, Sie auch 2020 wieder zu den Highlights begrüßen zu dürfen.

Herzlich

Ihr



Andreas Tiede

Wissenschaftliches Programm

Freitag, 15. März

Ab 10:30 Uhr	Foyer	Registrierung Imbiss
11:30 Uhr	Roter Saal	Begrüßung
12:00 Uhr	Roter Saal	Labordiagnostik Prof. Dr. Bernd Pötzsch
12:45 Uhr	Roter Saal	Von-Willebrand-Erkrankung Prof. Dr. Johanna Kremer Hovinga
13:30 Uhr		Kaffeepause
14:00 Uhr	Roter Saal	Hämophilie A und B Prof. Dr. Christoph Male
14:45 Uhr	Roter Saal	Innovative Hämophilie-Therapien: Klinische Studien Prof. Dr. Andreas Tiede
15:30 Uhr		Kaffeepause
16:00 Uhr	Roter Saal	Angeborene Thrombozytopenie/pathie Prof. Dr. Barbara Zieger
16:45 Uhr	Roter Saal	Medikamentös bedingte Thrombozytenfunktionsstörungen PD Dr. Thomas Thiele
17:30 Uhr		Kaffeepause
18:00 Uhr	Roter Saal	Innovative Therapien: Präklinische Entwicklungen Prof. Dr. Dr. Thomas Renné

Meet-the-Expert:

Jeweils zwei Referenten stehen in den Pausen nach ihren Vorträgen an einem Stand zur Diskussion zur Verfügung.

Wissenschaftliches Programm

Samstag, 16. März

09:30 Uhr	Roter Saal	Antithrombotische Differenzialtherapie Thrombozytenhemmung Prof. Dr. Daniel Dürschmied
10:15 Uhr	Roter Saal	Antikoagulation PD Dr. Jan Beyer-Westendorf
11:00 Uhr		Kaffeepause
11:30 Uhr	Roter Saal	Thrombose und Lungenembolie Prof. Dr. Ingrid Pabinger
12:15 Uhr	Roter Saal	Thrombophilie in der Schwangerschaft Dr. Ute Scholz
13:00 Uhr		Mittagspause
14:30 Uhr	Roter Saal	Heparin-induzierte Thrombozytopenie Prof. Dr. Andreas Greinacher
15:15 Uhr	Roter Saal	Nicht alltäglich: Interaktive Falldemonstration Prof. Dr. Bettina Kemkes-Matthes
16:00 Uhr	Roter Saal	Ende

Meet-the-Expert:

Jeweils zwei Referenten stehen in den Pausen nach ihren Vorträgen an einem Stand zur Diskussion zur Verfügung.

Referentenverzeichnis



PD Dr. Jan Beyer-Westendorf

Universitätsklinikum Carl Gustav Carus
an der Technischen Universität Dresden,
Medizinische Klinik I, Bereich Hämatologie
und Hämostaseologie, Dresden



Prof. Dr. Daniel Dürschmied

Universitäts-Herzzentrum Freiburg –
Bad Krozingen, Kardiologie und Angiologie I
und internistische Intensivmedizin, Freiburg



Prof. Dr. Andreas Greinacher

Universitätsmedizin Greifswald,
Abteilung Transfusionsmedizin, Greifswald



Prof. Dr. Bettina Kemkes-Matthes

Universitätsklinikum Giessen und
Marburg GmbH, Interdisziplinärer Schwerpunkt
für Hämostaseologie, Giessen



Prof. Dr. Johanna Kremer Hovinga

Inselspital Bern, Universitätsklinik für
Hämatologie und Hämatologisches Zentrallabor



Prof. Dr. Christoph Male

Medizinische Universität Wien, Universitäts-
klinik für Kinder- und Jugendheilkunde, Wien



Prof. Dr. Ingrid Pabinger

Medizinische Universität Wien,
Klinische Abteilung für Hämatologie und
Hämostaseologie, Wien

Referentenverzeichnis



Prof. Dr. Bernd Pötzsch

Universitätsklinikum Bonn, Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin, Bonn



Prof. Dr. Dr. Thomas Renné

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Institut für Klinische Chemie und
Laboratoriumsmedizin, Hamburg



Dr. Ute Scholz

MVZ Labor Dr. Reising-Ackermann
und Kollegen, Zentrum für Blutgerinnungs-
störungen, Leipzig



PD Dr. Thomas Thiele

Universitätsmedizin Greifswald,
Abteilung Transfusionsmedizin, Greifswald



Prof. Dr. Andreas Tiede

Klinik für Hämatologie, Hämostaseologie,
Onkologie und Stammzelltransplantation,
Medizinische Hochschule Hannover



Prof. Dr. Barbara Zieger

Universitätsklinikum Freiburg, Zentrum für
Kinder- und Jugendmedizin, Freiburg

Veranstalter und Herausgeber:

GTH Gesellschaft für Thrombose-
und Hämostaseforschung e.V.

Geschäftsstelle

Hansaring 61

50670 Köln / Germany

Telefon +49 221 1612-516

Telefax +49 221 1612-100

mail@gth-online.org

www.gth-online.org

Wissenschaftliche Leitung / Steering Committee:

Prof. Dr. Andreas Tiede, Hannover

PD Dr. Jan Beyer-Westendorf, Dresden

Prof. Dr. Andreas Greinacher, Greifswald

Prof. Dr. Ingrid Pabinger, Wien

Prof. Dr. Barbara Zieger, Freiburg

© Dieses Dokument ist urheberrechtlich geschützt. Die Weitergabe der Inhalte, Texte, Grafiken, Zeichnungen, Tabellen, Bilder o. Ä. - im Gesamten oder in Teilen - ist grundsätzlich untersagt. Es dürfen keinerlei Kopien oder Abschriften – auch in digitaler Form – gefertigt werden. Ausnahmen bedürfen der schriftlichen Genehmigung der GTH.

Produkthaftung:

Die Informationen der einzelnen Beiträge sind von den Autoren mit der berufsmäßigen Sorgfalt erbracht und auf der Grundlage des jeweils neuesten Standes der Wissenschaft entstanden.

Die Autoren und der Veranstalter übernehmen keinerlei Haftung für etwaige Personen- oder Sachschäden, die durch den Rückgriff auf die wissenschaftlichen Beiträge entstanden sind.

Labordiagnostik

Prof. Dr. Bernd Pötzsch

Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin

Universitätsklinikum Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

E-Mail: bernd.poetzsch@ukbonn.de

Allgemeine hämostaseologische Laboranalytik	3
Spezielle hämostaseologische Laboranalytik	7
Laboranalytische Diagnosepfade	21
Highlight 1: Genom-weite Exonanalyse in der Diagnostik hämorrhagischer Diathesen ..	25
Literatur	29

Allgemeine hämostaseologische Laboranalytik

Laboranalytische Testverfahren spielen in der Diagnostik von Hämostaseerkrankungen und in der hämostaseologischen Therapieführung eine entscheidende Rolle. Ihr zielgerichteter und effektiver Einsatz erfordert ein detailliertes Kenntnis des verfügbaren Testspektrums, der testspezifischen Charakteristika und der klinisch-diagnostischen Wertigkeit der einzelnen Testverfahren. Der labordiagnostische Ablauf wird in drei Phasen unterteilt, wobei die zentrale analytische Phase von einer präanalytischen und postanalytischen Phase flankiert wird.

Präanalytik

Die präanalytische Phase beginnt mit der Indikationsstellung zur Labordiagnostik und endet mit dem Beginn der Analysen im Labor. Durch die Parameterauswahl, die Qualität der Blutabnahme und den Bedingungen des Probenverkehrs werden in der präanalytischen Phase die Grundlagen für eine qualitativ hochwertige Laboranalytik gelegt (1).

Probenentnahme und Probentransport

Eine wesentliche Voraussetzung zur Durchführung einer validen Hämostasediagnostik ist die Verhinderung einer Aktivierung des Hämostasesystems während und nach der Blutabnahme. Um dies zu erreichen, werden Antikoagulantien in der Blutabnahmemonovette vorgelegt. Gängige Antikoagulantien sind Citrat oder EDTA oder seltener direkte Thrombininhibitoren. Bei einer Citratkonzentration von 0,105 mmol/l (3,2%) werden die freien Calciumionen im Blut gebunden und dadurch der Gerinnungsprozess effektiv blockiert. Gleichzeitig kann in der späteren Laboranalytik die antikoagulatorische Wirkung des Citrats zielgerichtet durch Calciumzugabe aufgehoben werden. Das Mischungsverhältnis zwischen Citrat und Blut sollte bei Hämatokritwerten zwischen 25 und 60% 1:9 betragen. Liegen die Hämatokritwerte außerhalb dieses Bereichs ist eine Anpassung des Citratvolumens erforderlich, da der Plasmaanteil sich entsprechend verändert.

EDTA bindet genauso wie Citrat freie Calciumionen. Im Unterschied zu Citrat hat EDTA den Vorteil, dass es in fester Form vorliegt und deswegen keine Volumenkorrekturen erforderlich sind. Verglichen mit Citrat hat es aber den Nachteil einer erschwerten Rekalzifizierung. Daher wird es in der zytomorphologischen Diagnostik eingesetzt, ist aber in der Gerinnungsanalytik kein gängiges Antikoagulans.

Meist erfolgt die Blutabnahme durch Punktion einer peripheren Vene. Trotz des Zusatzes von Citrat oder einem anderen Antikoagulans, kann bei schwierigen Punktionsverhältnissen eine Gerinnungsaktivierung während der Blutabnahme nicht sicher ausgeschlossen werden. Deswegen sollte die Information über eine technisch komplizierte Blutabnahme an das Labor weitergeleitet werden, um diese Information in der späteren Befundung berücksichtigen zu können. Erfolgt die Blutabnahme über einen zentralvenösen Zugang, sollten 10 ml Blut vor der Blutabnahme zur Gerinnungsanalytik

abgenommen werden. Dadurch soll eine Kontamination der Blutprobe mit Heparin oder einem anderen Antikoagulans vermieden werden (2).

Einige Point-of-care-Methoden (POCT) verwenden Kapillarblut, das durch Punktion einer Fingerbeere gewonnen wird. Hier sollte eine zu starke Massage der Fingerbeere vor der Punktion vermieden werden, da sonst ebenfalls die Gefahr einer vorzeitigen Gerinnungsaktivierung besteht.

Probentransport und Probenaufbereitung

Nach der Blutabnahme müssen die Lagerungs- und Transportbedingungen so gewählt werden, dass es nicht zu einer Verfälschung des Untersuchungsergebnisses durch einen endogenen Abbau des zu untersuchenden Parameters kommt. Für die Mehrzahl der hämostaseologischen Untersuchungen kann die Blutprobe nach Blutabnahme 24 h bei Raumtemperatur (RT) gelagert werden, sodass ein Probentransport meist unproblematisch möglich ist. Kann im Fall von labilen Parametern, wie zum Beispiel Protein S, eine Probenlaufzeit von 4 h nicht eingehalten werden, besteht eine Alternative im Verschicken von gefrorenem Plasma. Keinesfalls sollte die frisch entnommene Blutprobe bei 4°C gelagert werden, da es zu einer Kälte-induzierten Kontaktaktivierung kommen kann und verschiedene Hämostaseparameter, wie zum Beispiel Thrombozyten, durch Kälteexposition irreversibel geschädigt werden.

Nach Probeneingang erfolgt im Labor zunächst eine Qualitätskontrolle in der die korrekte Befüllung der Blutmonovette und die Eignung des Probenmaterials für die angeforderten Untersuchungen überprüft werden. Außerdem werden andere Auffälligkeiten, wie zum Beispiel eine Gerinnselbildung in der Monovette, überprüft.

Nur wenige hämostaseologische Analysen verwenden Vollblut. In den meisten Testverfahren wird Citratplasma eingesetzt, das durch Zentrifugation der Blutprobe bei 2.000 – 2.500 x g für 10-15 min bei RT gewonnen wird. Zur Thrombozyten-funktionsdiagnostik wird plättchenreiches Plasma (PRP) eingesetzt, das durch Zentrifugation des Vollblutes bei 150-200 x g für 15-20 min bei RT hergestellt wird. Das PRP kann bei RT für einige Stunden bis zur Analyse gelagert werden.

Analytik

Alle Testverfahren, die einen Parameter des Hämostasesystems quantitativ, semiquantitativ oder qualitativ erfassen, werden der hämostaseologischen Laboranalytik zugeordnet. In der Beschreibung des Analysenprozesses wird der zu messende Parameter als Analyt definiert, während die Messgröße die bestimmte Eigenschaft des Analyten beschreibt. Dabei wird zwischen funktionellen und strukturellen Messgrößen unterschieden. Eine funktionelle Messgröße bestimmt die biologische Aktivität eines Analyten, wie beispielsweise die enzymatische Aktivität eines Gerinnungsfaktors, während die über einen Antikörper ermittelte Konzentration eines Analyten eine strukturelle Messgröße darstellt. Entsprechend dieser Unterscheidung werden die Testverfahren in funktionelle und strukturelle Verfahren unterteilt.

Eine für die Hämostaseanalytik typische Gruppe von funktionellen Testverfahren bilden die koagulometrischen Testverfahren. Hier wird die Aktivität von Gerinnungsfaktoren über deren Fähigkeit zur Bildung eines Fibringerinnsels (Koagels) gemessen. Die Gerinnselbildung wird dabei mechanisch, optisch oder elektromechanisch gemessen. In den meisten Gerinnungsautomaten erfolgt die Messung der Gerinnselbildung foto-optisch oder mechanisch.

Eine weitere Gruppe von funktionellen Testverfahren bilden die „chromogenen“ oder „fluorogenen“ Testverfahren. Hier wird das biologische Substrat durch ein Peptidsubstrat ersetzt, das eine chromogene oder fluorogene Gruppe trägt, die nach Spaltung des Substrats zu einer entsprechenden Farbreaktion oder Generierung eines Fluoreszenzsignals führt. Korrekterweise müssten diese Testverfahren deswegen als Peptidsubstrat-Assays bezeichnet werden. Auch die Bestimmung der Thrombozytenaggregation gehört zu den funktionellen Testverfahren, da hier die aktive Änderung der Thrombozytenmorphologie gemessen wird.

Zur Gruppe der strukturellen Testverfahren gehören fast alle Antikörper-basierten Analyseverfahren. Besonders häufig kommen ELISA-Verfahren zur Anwendung. Im ELISA-Format werden Antikörper sowohl zur spezifischen Erkennung eines Analyten in der Plasmamatrix als auch zur nachfolgenden Quantifizierung eingesetzt. Auch in der FACS-Analytik werden die spezifischen Bindungseigenschaften von Antikörpern zur Detektion und Quantifizierung von Analyten in komplexen Gemischen genutzt. Molekulargenetische Untersuchungen bilden eine weitere Gruppe von strukturellen Testverfahren. Sie werden zur Mutationsdiagnostik und zur Expressionsanalyse eingesetzt.

Die Kenntnis der Leistungsfähigkeit der einzelnen Analyseverfahren ist eine wichtige Voraussetzung für die Bewertung der Analyseergebnisse. Zu diesen Kriterien, die in der Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen definiert sind, gehören unter anderem die analytische Sensitivität und Spezifität, der Messwertbereich sowie die systematische und zufällige Messwertabweichung (3). Maße für die analytische Sensitivität sind die Nachweisgrenze und die untere Quantifizierungsgrenze (limit of quantification). Dabei definiert die Nachweisgrenze die minimale Konzentration eines Analyten, die mit dem Testverfahren zwar nachgewiesen aber noch nicht quantifiziert werden kann. Eine Quantifizierung ist erst nach Erreichen der Quantifizierungsgrenze möglich. Der Messwertbereich gibt die Konzentrationsspanne eines Analyten an, bei der das Analyseergebnis in einem linearen Verhältnis zur Analytkonzentration steht.

Die systematischen und zufälligen Messwertabweichungen sind besonders wichtige Kenngrößen für die Bewertung der Analyseergebnisse. Um sie zu ermitteln, werden in jeder Analysenserie Kontrollproben mitgeführt, die den Analyten in einer physiologischen und pathologischen Konzentration enthalten (3). Zur Bestimmung der systematischen Messabweichung wird der Erwartungswert der Kontrollprobe vom Mittelwert von mehrfachen Wiederholungsmessungen der Kontrollprobe abgezogen. Die relative systematische Messabweichung, die auch als Unrichtigkeit bezeichnet wird, wird durch Division der systematischen Messabweichung durch den Zielwert ermittelt. Die auch als Unpräzision bezeichnete zufällige Messabweichung ist ein Maß für die Streuung der Einzelwerte. Sie wird ermittelt, indem der aus einer Serie von

Wiederholungsmessungen gebildete Mittelwert von den Einzelmessungen abgezogen wird (3).

Postanalytik

In der postanalytischen Phase erfolgt die technische und medizinische Bewertung der Laborbefunde. Zur technischen Validation gehört die Überprüfung, ob die Werte der in der Analysenserie mitgeführten Kontrollproben die Vorgaben zu den Messabweichungen erfüllen. Liegen die Werte außerhalb der vorgegebenen Spezifikation, müssen mögliche Fehlerquellen identifiziert und die Analysenserie wiederholt werden. Die Plausibilitätskontrolle ist ein weiteres Element der technischen Validation. Hier wird überprüft, ob die Ergebnisse von Analysenverfahren zueinander schlüssig sind. Ein Beispiel für ein unplausibles Ergebnis ist beispielsweise ein stark erniedrigter Fibrinogenwert bei einer im Referenzbereich liegenden Thromboplastinzeit.

Im Anschluss an die technische Validation erfolgt die klinische Bewertung der Analysenergebnisse. Anhand des Referenzbereichs, der die biologische Streuung des Parameters wiedergibt und Einflussgrößen, wie z. B. Geschlecht und Alter, berücksichtigt, erfolgt zunächst eine Bewertung, ob der Messwert von dem Referenzbereich abweicht. Anschließend erfolgt eine Bewertung, ob diese Abweichung krankheitsrelevant ist und die beschriebenen klinischen Symptome erklären kann und mögliche therapeutische Interventionen rechtfertigt. Existieren im Krankheitsverlauf Vorwerte, werden diese in die Befundung mit einbezogen.

Spezielle hämostaseologische Laboranalytik

Die breite Palette und große Anzahl von unterschiedlichen hämostaseologischen Labortesten spiegelt die Komplexität des Hämostasesystems wider. Die folgende Auswahl fasst eine Reihe von häufig in der Routinediagnostik eingesetzten Testverfahren zusammen. Die Testverfahren sind dabei zu Analytgruppen zusammengefasst, die sich an den verschiedenen Funktionsbereichen des Hämostasesystems orientieren. Für jedes Testverfahren werden das Messprinzip, das benötigte Probenmaterial und Besonderheiten kommentiert.

Diagnostik des thrombozytären Systems

Dieser Gruppe werden Testverfahren zugerechnet, die direkt oder indirekt die biologische Funktion des Thrombozyten und die Funktionalität der Achse Subendothel – Thrombozyt erfassen. Dementsprechend wird auch die von-Willebrand-Faktor-Analytik dieser Gruppe zugerechnet, da dem von-Willebrand-Faktor (vWF) eine entscheidende Rolle in der Thrombozytenadhäsion zukommt.

Thrombozytenzahl

Messprinzip:

Die Bestimmung der Thrombozytenzahl erfolgt routinemäßig mit Vollautomaten. Die Thrombozytenpopulation wird anhand der Größe und Zellmasse erkannt. Entsprechend der Größe und der Farbeigenschaften kann eine Subpopulation, die sogenannten retikulären Thrombozyten, abgegrenzt werden. Vergleichbar mit Retikulozyten sind retikuläre Thrombozyten junge Thrombozyten.

Probenmaterial und Präanalytik:

- EDTA-Vollblut oder Kapillarblut
- Citrat-Vollblut zur Abklärung einer EDTA-induzierten Pseudothrombozytopenie

Kommentar:

Wird bei einem Patienten erstmalig eine Thrombozytopenie diagnostiziert, muss eine EDTA-induzierte Thrombozytopenie ausgeschlossen werden. Diese ist ein reines Laborphänomen ohne klinische Relevanz. Durch die Zugabe von EDTA kommt es zu einer Agglutinatbildung und diese Agglutinate werden von den Analysenautomaten fehlinterpretiert. Zum Ausschluss einer EDTA-induzierten Thrombozytopenie wird der Wert in einer Blutprobe nachkontrolliert, die durch ein anderes Antikoagulum als EDTA ungerinnbar gemacht wurde. Bewährt hat sich die Bestimmung der Thrombozytenzahl im Citrat- bzw. im Heparin-Vollblut oder in Mg²⁺-vorbeschichteten Monovetten.

Beim Einsatz von Citrat-Vollblut muss der Verdünnungseffekt durch das vorgelegte flüssige Citrat korrigiert werden.

Besteht der Verdacht einer Thrombozytopathie mit morphologisch veränderten Thrombozyten wie z. B. Riesenplättchen, sollte die elektronische Zählung mit der Analyse eines Blutausrichs kombiniert werden.

Platelet-function-analyzer-(PFA)-Analytik

Messprinzip:

Es handelt sich um eine automatisierte Bestimmungsmethode, bei der antikoaguliertes Vollblut durch eine Kapillare geleitet wird, in die eine mit Kollagen und einem Thrombozytenaktivator beschichtete Membran integriert ist. Durch den Kontakt mit der Membran werden die Thrombozyten aktiviert, sie aggregieren und verschließen die Kapillare, sodass der Blutfluss gestoppt wird. Die Zeit bis zum Abbrechen des Blutflusses entspricht der in-vitro-Blutungszeit.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Blutabnahme werden PFA-Monovetten verwendet, die zur Stabilisierung der Thrombozyten einen speziellen Puffer enthalten. Bei RT können die Blutproben 4 h gelagert werden. Vor der Analyse sollte die Probe 10 min bei RT ruhen.

Kommentar:

Bei einem Hämatokritwert $< 0,35$ wird die Verschlusszeit durch den niedrigen Erythrozytengehalt beeinflusst, sodass eine valide Beurteilung der Thrombozytenfunktion nicht möglich ist. Auch bei Thrombozytenzahlen $< 80/\text{nl}$ ist eine valide Messung nicht möglich.

Thrombozytenaggregometrie nach Born

Messprinzip:

In der Thrombozytenaggregometrie wird die Fähigkeit der Thrombozyten gemessen, nach Aktivierung durch einen spezifischen Agonisten ein Aggregat zu bilden. Gängige Agonisten sind: ADP, Kollagen, Arachidonsäure, Epinephrin (Adrenalin), TRAP (ein Peptid, das Thrombinrezeptor aktiviert) und Ristocetin. Die Thrombozytenaggregometrie nach Born ist eine fotooptische Methode. Die Lichtdurchlässigkeit von thrombozytenreichem Plasma ist niedrig und ändert sich durch die Aggregatbildung.

Probenmaterial und Präanalytik:

Citrat-Vollblut aus dem durch Zentrifugation plättchenreiches Plasma hergestellt wird.

Kommentar:

Anhand des Aggregationsmusters können Rückschlüsse auf Störungen von verschiedenen Signaltransduktionswegen der Thrombozyten gezogen werden. Mit der Thrombozytenaggregation kann die Wirkung von thrombozytenfunktionshemmenden Medikamenten überprüft werden. Mit ASS behandelte Patienten zeigen eine Einschränkung der epinephrin- und arachidonsäureinduzierten Aggregation, wohingegen

Clopidogrel und andere P2Y-Inhibitoren eine Einschränkung der ADP-induzierten Aggregation zeigen.

Vollblutaggregometrie/ Impedanzaggregometrie

Messprinzip:

Die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten wird im Vollblut durch Änderung des elektrischen Widerstands zwischen 2 Elektroden (Impedanzaggregometrie) gemessen.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Untersuchung wird Vollblut eingesetzt, das mit Thrombininhibitor antikoaguliert wird.

Kommentar:

Im Unterschied zur fotooptischen Methode hat das Verfahren den Vorteil, dass die Herstellung von plättchenreichem Plasma entfällt. Nachteile sind die etwas geringere Sensitivität und die Verwendung eines speziellen Antikoagulanzes.

Von-Willebrand-Faktor-(vWF)

Messprinzip:

In der vWF-Diagnostik werden verschiedene Laborverfahren kombiniert, da mit einem einzelnen Testverfahren die verschiedenen Funktionen des vWF nicht erfasst werden können. Zur Bestimmung der vWF-Konzentration werden Antikörper-basierte Verfahren, wie z. B. ein ELISA, eingesetzt. Die Fähigkeit des vWF an Kollagen und den thrombozytären Glykoprotein-Ib-IX-Rezeptorkomplex zu binden, wird mit Testverfahren ermittelt, die in einem ersten Schritt das Plasma mit dem jeweiligen Liganden exponieren und anschließend den gebundenen vWF messen. Weitere diagnostische Methoden umfassen das vWF-Multimeranalyse und eine molekulargenetische Diagnostik.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung des vWF-Antigens und der vWF-Kollagen- und GPIb-Bindungsfähigkeit erfolgen aus Citratplasma. Der vWF ist stabil. Deswegen kann das Citratblut bis zur Analytik bis zu 3 Tage bei RT gelagert werden.

Kommentar:

Die Plasmakonzentration des vWF wird vom ABO-Blutgruppenstatus beeinflusst. Träger der Blutgruppenmerkmale O und A₂ weisen signifikant niedrigere vWF-Plasmakonzentrationen auf. Zur Beurteilung der vWF-Parameter werden deswegen ABO-Blutgruppen-spezifische Referenzwertbereiche ausgewiesen.

Diagnostik der prokoagulatorischen Gerinnungsfähigkeit

Dieser Gruppe werden alle Testverfahren zugerechnet deren Analyte für die Ausbildung eines stabilen Fibringerinnsels relevant sind. Klassischerweise gehören dazu die koagulometrischen Testverfahren, die die Analytaktivität über die Zeit von der Zugabe eines Aktivators bis zur Ausbildung eines Gerinnsels erfassen.

Thromboplastinzeit (TPZ, Quick-Wert) und INR-Bestimmung

Messprinzip:

Durch Zugabe von Gewebethromboplastin (Tissue factor) und Calciumionen wird die plasmatische Gerinnung aktiviert. Dabei ist die TF-Konzentration so hoch gewählt, dass es zu einer relevanten Thrombinbildung auch ohne die Verstärkungsmechanismen der intrinsischen Gerinnung kommt. Messgröße ist die Zeit zwischen der Zugabe des TF und der Gerinnselbildung.

Die verschiedenen Thromboplastinreagenzien enthalten rekombinant hergestellten oder aus Organen aufgereinigten TF und unterscheiden sich in ihrer biologischen Aktivität. Daraus resultieren unterschiedliche Gerinnungszeiten je nach verwendetem Reagenz.

Aus der Thromboplastinzeit wird über eine Referenzkurve der in Prozent angegebene Quick-Wert abgeleitet. Dabei entspricht ein Wert von 100% der Gerinnungszeit in einem unverdünnten Plasmapool. Zur Ermittlung der International Normalized Ratio (INR) wird die individuelle Gerinnungszeit durch den Mittelwert eines Referenzkollektivs geteilt und mit einem Korrekturfaktor multipliziert. Dieser als International Sensitivity Index (ISI)-Wert bezeichnete Korrekturfaktor wird von den Thromboplastin-Herstellern ermittelt und gleicht reagenzienspezifische Unterschiede aus.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung der Thromboplastinzeit erfolgt im Labor aus Citratplasma. In der POCT-Diagnostik wird kapilläres Vollblut eingesetzt.

Kommentar:

Die Thromboplastinzeit kann durch einen Mangel der Gerinnungsfaktoren VII, V, X, II oder einen Fibrinogenmangel verlängert werden. Die weitere differenzialdiagnostische Abklärung erfolgt in Kombination mit einer APTT-Bestimmung und nachfolgender Einzelfaktorenanalyse.

Antiphospholipid-Antikörper können ohne Vorliegen eines Einzelfaktormangels durch Reaktion mit der Phospholipid-Komponente zu einer Verlängerung der Thromboplastinzeit führen und müssen in die differenzialdiagnostische Bewertung einbezogen werden.

Direkte Thrombininhibitoren (z. B. Dabigatran) und FXa-Inhibitoren, wie die Xabane, verlängern die Thromboplastinzeit. Ein Monitoring dieser Substanzen über die Thromboplastinzeit ist jedoch nicht möglich. Heparin verlängert die Thromboplastinzeit nicht, da dem Reagenz ein Heparinneutralisator (Polybren) zugesetzt wird.

Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT)

Messprinzip:

Die APTT ist ein Zweistufentest. In einem ersten Schritt wird das Kontaktfaktorensystem aktiviert und anschließend der Gerinnungsprozess durch Zugabe von Calcium gestartet. Das Kontaktfaktorensystem wird durch Zugabe von stark negativ geladenen Oberflächen aktiviert und führt zur Bildung von FXIa, der nachfolgend die Gerinnungskaskade aktiviert.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Bestimmung wird Citratplasma eingesetzt, das bei RT 4h – 1d lagerbar ist.

Kommentar:

Der Referenzwertbereich ist im Wesentlichen abhängig von dem eingesetzten APTT-Reagenz. Bei den meisten Reagenzien liegt der Referenzbereich zwischen 25 und 35 Sekunden. Kinder haben etwas längere APTT-Werte als Erwachsene.

Die APTT wird durch einen Mangel der Faktoren XI, IX, VIII, X, V und einen Fibrinogenmangel verlängert. In Kombination mit der Thromboplastinzeitbestimmung kann eine erste differenzialdiagnostische Abschätzung vorgenommen werden, die durch nachfolgende Einzelfaktorenanalyse spezifiziert wird. Das Ausmaß der APTT-Verlängerung korreliert nicht in jedem Fall mit dem Blutungsrisiko.

Auch ein Kontaktfaktorenmangel führt zu einer verlängerten APTT, ist aber nicht mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden. Allerdings ist bei Vorliegen eines Kontaktfaktorenmangels die APTT nicht zur Steuerung einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin geeignet.

Die APTT wird durch unfraktioniertes Heparin, direkte Thrombininhibitoren und direkte FXa-Inhibitoren verlängert. Während sie zur Therapiesteuerung von unfraktioniertem Heparin und parenteralen Thrombininhibitoren, wie z. B. Argatroban, eingesetzt wird, ist ein Monitoring der direkten oralen Antikoagulanzen mit der APTT nicht möglich. Niedermolekulares Heparin und das synthetische Heparin Fondaparinux verlängern die APTT in therapeutischer Dosierung nicht, sondern nur bei übertherapeutischen Dosierungen.

Antiphospholipid-Antikörper können ohne Vorliegen eines Einzelfaktormangels durch Reaktion mit der Phospholipid-Komponente zu einer Verlängerung der APTT führen und müssen in die Differentialdiagnostik einbezogen werden.

Gerinnungsfaktoren II - XII

Messprinzip:

Das Patientenplasma wird mit einem Mangelplasma gemischt, das alle Gerinnungsfaktoren bis auf den zu untersuchenden Gerinnungsfaktor in physiologischer Konzentration enthält. Dadurch korreliert die gemessene Gerinnungszeit mit der

Faktorenkonzentration. Eine Referenzkurve wird durch serielle Ausverdünnung eines Standardnormalplasmas erstellt und die jeweilige Einzelfaktoraktivität in Prozent ausgedrückt.

Probenmaterial:

Die Bestimmung erfolgt aus Citratplasma.

Kommentar:

Ein isolierter Einzelfaktorenmangel ist hinweisend auf eine hereditäre Gerinnungsstörung, wie z. B. eine Hämophilie A oder B. Das Ausmaß der Faktorenniedrigung korreliert in der Regel mit der klinischen Symptomatik. Kombinierte Einzelfaktorenmängel sind meist erworben. Ein Beispiel sind die infolge eines Vitamin-K-Mangels auftretenden Verminderungen der Faktoren VII, IX, X und II. Seltener wird ein Faktorenmangel durch einen inhibitorisch wirkenden Antikörper ausgelöst.

Fibrinogenbestimmung

Messprinzip:

Durch Zugabe einer hohen Thrombinkonzentration wird das in der Plasmaprobe vorhandene Fibrinogen zum Gerinnen gebracht. Gemessen wird die Zeit bis zur Gerinnelbildung. Eine Referenzkurve wird durch serielle Ausverdünnung eines Standardnormalplasmas erstellt. In Ergänzung zur funktionellen Bestimmung ist eine immunologische Bestimmung von Fibrinogen mithilfe von polyklonalen Antikörpern möglich. Darüber hinaus ist eine mathematische Abschätzung der Fibrinogenkonzentration aus der Thromboplastinzeit möglich, die als „derived fibrinogen“ bezeichnet wird.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung erfolgt aus Citratplasma. Das Probenmaterial kann bei RT bis zu 3 Tage gelagert werden.

Kommentar:

Falsch niedrige Werte können bei Patienten gemessen werden, die mit Thrombininhibitoren behandelt werden.

Faktor-XIII

Messprinzip:

Zur Bestimmung der FXIII-Aktivität wird in der Untersuchungsprobe vorhandener FXIII zunächst durch Zugabe von Thrombin aktiviert. Ein gleichzeitig zugesetzter Polymerisationshemmer verhindert, dass es durch die Thrombinwirkung zur Bildung eines Fibringerinnsels kommt. Der aktivierte FXIII katalysiert die Ausbildung einer kovalenten Bindung zwischen einem ebenfalls zugesetzten Peptidsubstrat und Glycinethylester. Bei dieser Reaktion wird Ammoniak freigesetzt, dessen Konzentration

über die Abnahme von NADH fotometrisch gemessen wird. Es besteht eine lineare Konzentration zwischen der Ammoniakbildung und der FXIII-Aktivität.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung erfolgt aus Citratplasma. Eine Lagerung des Probenmaterials ist für 24 h bei RT möglich.

Kommentar:

Eine Störgröße in der FXIII-Bestimmung ist die Ammoniak-Konzentration im Blut, da diese zu falsch hohen FXIII-Werten führen kann.

Diagnostik des antikoagulatorischen Potenzials

Dieser Gruppe werden Testverfahren zugeordnet, die endogene Inhibitoren als Analyten erfassen.

Antithrombin

Messprinzip:

Die Inaktivierungsrate der Enzyme FXa und Thrombin ist im Plasma im Wesentlichen von der Antithrombinkonzentration abhängig. Deswegen kann die Antithrombin-aktivität über die Inaktivierung von FXa oder Thrombin gemessen werden. Der Plasmaprobe wird FXa oder Thrombin zugesetzt und nach einer Inkubationszeit deren Aktivität gemessen. Die messbare Thrombin- oder FXa-Aktivität ist umgekehrt proportional zur Antithrombinaktivität. Eine Bestimmung des Antithrombin-Antigens kann mit spezifischen Antikörpern erfolgen. Zur Routineanalytik wird die kinetische Methode eingesetzt.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung erfolgt aus Citratplasma. Das Probenmaterial kann bei RT 2 d gelagert werden.

Kommentar:

Direkte FXa-Inhibitoren führen bei einer FXa-basierten Messmethode zu falsch hohen Werten und umgekehrt beeinflussen direkte Thrombininhibitoren die thrombinabhängige Antithrombinbestimmung. Deswegen muss eine solche Medikation in der Interpretation der Antithrombin-Werte berücksichtigt werden.

Protein C (PC) und Protein S (PS)

Messprinzip:

Zur Bestimmung der PC-Aktivität wird Protein C durch Zugabe eines Aktivators in aktiviertes PC (APC) überführt. Der anschließende Nachweis von APC erfolgt über die Spaltung eines chromogenen Peptidsubstrats. Alternativ ist auch ein Nachweis über die Verlängerung der Gerinnungszeit eines PC-Mangelplasmas möglich. Ein Nachweis des PC-Antigens ist mit Antikörper-basierten Testverfahren möglich.

Die Bestimmung des antikoagulatorisch aktiven PS erfolgt meist mit einem monoklonalen Antikörper, der ein für die antikoagulatorische Wirkung essentielles Epitop im freien PS erkennt. Alternativ ist ein Nachweis der PS-Kofaktorfunktion mit einem PS-Mangelplasma möglich. Analog zur Einzelfaktorenbestimmung wird das zu untersuchende Plasma mit PS-Mangelplasma gemischt und anschließend nach Zugabe von APC die Verlängerung der Gerinnungszeit gemessen. Mit dieser Testkonfiguration kann jedoch nicht zwischen einer APC-Resistenz und einem Protein-S-Mangel unterschieden werden. Sie wird deswegen in der Routinediagnostik selten eingesetzt.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmungen erfolgen aus Citratplasma. PS ist nicht lagerungsstabil. Bei einem Probentransport > 6 h ist der Versand einer gefrorenen Plasmaprobe erforderlich.

Kommentar:

PC und PS werden Vitamin-K-abhängig synthetisiert. Bei erniedrigten Werten sollte deswegen ein Vitamin-K-Mangel ausgeschlossen werden. Die Durchführung einer Diagnostik unter einer Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten ist nicht sinnvoll. Erniedrigte Werte sollten in einer Zweituntersuchung geprüft und ein hereditärer Mangel durch eine molekulargenetische Diagnostik bestätigt werden.

Diagnostik thrombophiler Risikofaktoren

Thrombophile Risikofaktoren erhöhen das venöse Thromboserisiko von Merkmalsträgern verglichen mit einer geschlechts- und altersangepassten Kontrollpopulation.

APC-Resistenz und Faktor-V-Leiden-Mutation

Messprinzip:

Zur Bestimmung der APC-Resistenz wird die APTT mit und ohne Zusatz von APC gemessen. Zur Ermittlung der APC-Ratio wird die in Anwesenheit von APC gemessene Gerinnungszeit durch den Wert ohne APC dividiert.

Eine Bestimmung der Faktor-V-Leiden-Mutation ist mit verschiedenen molekularbiologischen Testverfahren möglich.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Bestimmung der APC-Ratio erfolgt aus Citratplasma. Genomische DNA, die aus EDTA-Blut isoliert wird, wird für die molekularbiologische Diagnostik eingesetzt.

Kommentar:

Substanzen, die zu einer Verkürzung oder Verlängerung der APTT führen, und die nicht durch Reagenzienzusätze neutralisiert werden können, beeinträchtigen die Bestimmung der APC-Ratio. Dementsprechend können Antiphospholipid-Antikörper oder der FVIII-mimetische Antikörper Emicizumab die APC-Ratio-Bestimmung beeinflussen. Unfraktioniertes Heparin ist keine Störgröße, da den kommerziellen Testreagenzien Polybren zur Heparinneutralisation zugesetzt wird. Auch Faktorenmängel, die zu einer APTT-Verlängerung führen könnten, können durch Verdünnung der Plasmaprobe mit FV-Mangelplasma ausgeglichen werden.

Prothrombin-G20210A-Mutation

Messprinzip:

Die Prothrombin-G20210A-Mutation ist eine Punktmutation im 3´-nicht-kodierenden Bereich des Prothrombingens. Sie kann durch verschiedene molekulargenetische Verfahren diagnostiziert werden. Ein häufig eingesetztes Verfahren ist die sequenzspezifische PCR, die durch den Einsatz von allelspezifischen Primersequenzen eine Unterscheidung zwischen Wildtyp und Mutante erlaubt.

Probenmaterial:

Ausgangsmaterial für die Prothrombin-G20210A-Mutation ist genomische DNA, die aus EDTA-Blut isoliert wird.

Antiphospholipid-Antikörper (APA)

Messprinzip:

Antiphospholipid-Antikörper sind gegen Komplexe gerichtet, die aus einem negativ geladenen Phospholipid und einem phospholipidbindenden Protein bestehen. Ein Teil der APA verlängert Phospholipid-abhängige Gerinnungszeiten. Da dieser Phänotyp erstmals bei Patienten mit einem Lupus erythematodes beobachtet wurde, wurde die Bezeichnung Lupus antikoagulans geprägt. In vivo ist der Lupus-antikoagulans-Phänotyp mit einer Thromboseneigung und nicht mit einer Blutungsneigung verbunden. Ein Nachweis der APA ist im ELISA-Format möglich. Dazu werden Phospholipid-Protein-Komplexe auf einer ELISA-Platte immobilisiert und die Menge an gebundenen APA mit einem Sekundärantikörper bestimmt. Zum Nachweis eines Lupus-Antikoagulans-Phänotyps werden Gerinnungsteste eingesetzt, in denen die Phospholipid-Konzentration zur limitierenden Größe wird. Ein Beispiel ist der diluted-Russels-Viper-Venom-(dRVV)-Test. Das RVV ist ein Schlangengift, das FXa bildet. In Anwesenheit von Lupus-Antikoagulanzen ist die FXa-Bildung verzögert und dadurch die nachfolgende

Gerinnungszeit verlängert. Wird die verlängerte Gerinnungszeit durch Zugabe von Phospholipiden korrigiert, ist dies beweisend für das Vorliegen von APA.

Probenmaterial und Präanalytik:

Die Analytik erfolgt aus Citratplasma. Das Probenmaterial kann bis zur Analytik bis zu 3 Tage gelagert werden.

Kommentar:

Der Nachweis von Antiphospholipid-Antikörpern aus 2 Blutproben, die mit einem Mindestabstand von 12 Wochen gewonnen wurden, begründet in Kombination mit thrombotischen Ereignissen oder einer Abortneigung die Diagnose eines Antiphospholipid-Syndroms. Können Antiphospholipid-Antikörper in einer zweiten Untersuchung nicht bestätigt werden, waren die Antiphospholipid-Antikörper wahrscheinlich im Rahmen eines Infekts aufgetreten. Das Thromboserisiko und das Risiko für Fehlgeburten sind in diesen Fällen nicht erhöht.

Im Kindesalter sind Antiphospholipid-Antikörper eine häufige Ursache für APTT-Verlängerungen. Im Unterschied zu Erwachsenen ist der Nachweis von APA im Kindesalter nicht mit einer Erhöhung des Thromboserisikos verbunden.

Heparininduzierte Thrombozytopenie

Messprinzip:

Der Nachweis von HIT-typischen Antikörpern ist durch die direkte Antikörperbestimmung mit einem ELISA oder indirekt durch den Nachweis der heparinabhängigen thrombozytenaktivierenden Eigenschaften der Antikörper möglich. Im ELISA-Verfahren wird die Bindung des HIT-Antikörpers an immobilisierte HIT-typische Antigene gemessen.

Zum funktionellen Nachweis werden gewaschene Spenderthrombozyten mit dem Testserum in Anwesenheit von unterschiedlichen Heparinkonzentrationen inkubiert. Bei Vorliegen von HIT-Antikörpern kommt es bei niedrigen Heparinkonzentrationen zu einer Thrombozytenaktivierung, während bei hohen Heparinkonzentrationen die Thrombozytenaggregation unterdrückt wird, weil die Ausbildung der thrombozytenaktivierenden Immunkomplexe unterdrückt wird.

Probenmaterial:

Zur Analytik wird Citratplasma oder Serum eingesetzt.

Kommentar:

Die diagnostische Spezifität der ELISA-Verfahren ist niedriger als die des funktionellen Nachweises. Deswegen sollten insbesondere im Grenzwertbereich liegende ELISA-Befunde im funktionellen Test überprüft werden.

Diagnostik des intravasalen fibrinolytischen Systems

Das intravasale fibrinolytische System ermöglicht einen enzymatischen Abbau von Fibrin und spielt dadurch eine wichtige Rolle in der Regulation der Gerinnselgröße und in der Rekanalisation von thrombotisch verschlossenen Gefäßbezirken.

Die Thrombelastographie

Messprinzip:

Die Thrombelastographie ist eine Vollblutmethode, mit der die zeitabhängige Bildung eines Fibringerinnsels über seine viskoelastischen Eigenschaften gemessen wird. Dazu wird ein beweglicher Stempel in das mit Vollblut gefüllte Reaktionsgefäß getaucht. Durch die Gerinnselbildung kann eine Rotationsbewegung des Reaktionsgefäßes auf den Stempel übertragen werden. Das Thrombelastogramm erfasst die Auslenkungen des Stempels in seiner vertikalen Achse.

Gemessen werden die r-Zeit, die k-Zeit und die maximale Amplitude. Die r-Zeit (Reaktionszeit) ist die Zeit von der Rekalzifizierung bis zum Einsetzen des Gerinnungsprozesses. Die Zeit bis zur Ausbildung eines stabilen Gerinnsels ist die k-Zeit (Koagulationszeit). Die maximale Amplitude ist ein Maß für die Festigkeit des Gerinnsels. Durch Einsatz von verschiedenen Aktivatoren wie Thromboplastin, APTT-Reagenz oder von thrombozytenaktivierenden Substanzen kann das Spektrum der Thrombelastographie erweitert werden. Als Point-of-care-Methode bietet sie den Vorteil, dass sie patientennah, z. B. auch im Operationssaal oder Schockraum, durchgeführt werden kann.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Analytik wird Citratvollblut eingesetzt.

Kommentar:

Ein Vorteil der Thrombelastographie ist die Messung in der natürlichen Matrix Vollblut. Ein Nachteil ist die Vielzahl von Einflussfaktoren durch die das Messergebnis beeinflusst wird, sodass eine differenzialdiagnostische Interpretation nur schwierig möglich ist. Durch die Verwendung von unterschiedlichen Agonisten wird versucht, diesen Nachteil zu kompensieren. Dadurch kann mit der Fib-TEG-Methode ein Fibrinogenmangel erkannt werden. Bei Vorliegen einer Hyperfibrinolyse kommt es im Zeitverlauf nach zunächst erfolgter Gerinnung zu einer Verschmälerung der Amplitude. Die Sensitivität, mit der eine Hyperfibrinolyse erkannt werden kann, ist eingeschränkt.

Plasminogen

Messprinzip:

Die Bestimmung der Plasminogenkonzentration erfolgt über einen funktionellen Test. Dem Plasma wird Streptokinase zugesetzt. Dadurch wird auch ohne proteolytische Spaltung das aktive Zentrum für ein Peptidsubstrat zugänglich. Die Hydrolyserate des Peptidsubstrats korreliert mit der Plasminogenkonzentration.

Probenmaterial:

Zur Analytik wird Citratplasma eingesetzt.

Kommentar:

Ein hereditärer Plasminogenmangel ist eine sehr seltene Erkrankung, die mit einer arteriellen oder venösen Thromboseneigung einhergehen kann. Beim schweren Plasminogenmangel kommt es zur Ausbildung von fibrinreichen Pseudomembranen auf den Schleimhäuten. Typische Manifestationen sind die lignöse Konjunktivitis, die pseudomembranöse Laryngitis.

D-Dimer

Messprinzip:

Zur Bestimmung der D-Dimer-Konzentration wird ein monoklonaler Antikörper eingesetzt, der ein Neo-Epitop erkennt, das durch die Plasmin-induzierte Fibrinspaltung entsteht. Dieses Epitop kommt im Fibrinogenmolekül und in Fibrin nicht vor, sodass die D-Dimer-Bestimmung durch die Fibrinogen- und Fibrinkonzentration nicht beeinflusst wird. Das über den Neo-Epitop-spezifischen Antikörper gefangene D-Dimer wird anschließend mit polyklonalen Antikörpern quantifiziert.

Probenmaterial:

Zur Analytik wird Citratplasma eingesetzt.

Kommentar:

Zurzeit gibt es keinen definierten Standard, der zur Erstellung der Referenzkurve eingesetzt wird. In den meisten Testverfahren ist der Referenzstandard so eingestellt, dass in einer gesunden Population der D-Dimer-Wert $< 0,5 \mu\text{g/ml}$ liegt. Der D-Dimer-Wert ist altersabhängig. Dabei gilt als Faustregel, dass der D-Dimer-Wert pro Lebensjahrzehnt um $0,1 \mu\text{g/ml}$ steigt.

Therapeutisches Drug Monitoring

Dieser Gruppe werden alle Testverfahren zugeordnet, mit denen die Wirkung von hämostaseologisch relevanten Therapien überwacht werden können.

Activated Clotting Time (ACT)

Messprinzip:

Ähnlich wie zur Bestimmung der APTT wird die Gerinnung über das Kontaktfaktorensystem aktiviert. Im Unterschied zur APTT ist die Konzentration an zugesetzten Kontaktaktivatoren, wie Kaolin oder Celite, deutlich höher. Durch den Einsatz von Vollblut, dem während der Blutabnahme kein Antikoagulant zugesetzt wird, ist eine Rekalifizierung der Probe während der Analyse nicht erforderlich. Außerdem werden die Kriterien einer POCT-Diagnostik erfüllt.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Analytik wird natives Vollblut eingesetzt. Dementsprechend muss der Analyseprozess unmittelbar nach Blutabnahme gestartet werden.

Kommentar:

Mit der ACT können Heparinwerte über 1 E/ml noch linear erfasst werden. Dies ist mit der APTT nicht möglich. Deswegen ist sie zur Überwachung einer hochdosierten Heparintherapie und zur Dosisadjustierung geeignet. Ein Kontaktfaktorenmangel verlängert die ACT. Dies darf nicht als ausreichende "endogene" Antikoagulation fehlinterpretiert und auf die Gabe eines Antikoagulans verzichtet werden. Durch einen Kontaktfaktorenmangel ist die Gerinnbarkeit des Blutes im extrakorporalen System nicht herabgesetzt. In diesen Fällen muss die Überwachung der Heparintherapie durch alternative Methoden, wie z. B. durch Bestimmung der anti-FXa-Einheiten, erfolgen.

Faktor-Xa-Inhibitionstest (anti-Xa-Bestimmung)

Messprinzip:

Gemessen wird die Inaktivierungsrate von Faktor Xa (FXa). Dazu wird der Plasmaprobe ein FXa-Reagenz zugesetzt und nach einer Inkubationszeit die FXa-Aktivität koagulometrisch oder amidolytisch bestimmt. Die Menge an FXa ist der Konzentration an FXa-Inhibitor umgekehrt proportional. Durch die Verwendung von antikoagulanzen-spezifischen Referenzkurven können die Plasmaspiegel von niedermolekularem Heparin, dem synthetischen Heparin Fondaparinux und den direkten oralen FXa-Inhibitoren gemessen werden.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Bestimmung wird Citratplasma eingesetzt. Das Probenmaterial kann bei RT 6 h gelagert werden.

Kommentar:

Im Alltag haben sich für die niedermolekularen Heparine ein Zielbereich von 0,1 – 0,3 für eine prophylaktische Antikoagulation und ein Zielbereich von 0,5 – 0,7 für eine therapeutische Antikoagulation etabliert. Aus den klinischen Studien zur Zulassung der direkten FXa-Inhibitoren wurden Bereiche für Peak- und Talspiegelwerte abgeleitet. Bei Unter- oder Überschreiten dieser Bereiche ist die Wahrscheinlichkeit für eine ineffektive Antikoagulation oder ein erhöhtes Blutungsrisiko trotz der großen therapeutischen Breite möglich.

Thrombin-Inhibitionstest

Messprinzip:

Analog zur Bestimmung der aXa-Einheiten wird dem Plasma eine definierte Konzentration an Thrombin zugesetzt. Entsprechend der Konzentration an Thrombininhibitor in der Plasmaprobe wird ein Teil des zugegebenen Thrombins

neutralisiert. Dementsprechend ist die nach einer Inkubationsphase gemessene Thrombinkonzentration umgekehrt proportional der Thrombininhibitorkonzentration. Anhand einer Referenzkurve kann die Thrombininhibition in Antikoagulanzienspiegel umgerechnet werden.

Probenmaterial und Präanalytik:

Zur Analytik wird Citratplasma eingesetzt. Das Probenmaterial kann bei RT 24 h gelagert werden.

Kommentar:

In der Interpretation der Plasmaspiegel des direkten oralen Thrombininhibitors Dabigatran muss dessen Pharmakokinetik berücksichtigt werden. Dies wird durch Angabe des zeitlichen Abstands zwischen letzter Einnahme und der Blutabnahme ermöglicht.

Auch eine Bestimmung der Plasmaspiegel der parenteralen direkten Thrombininhibitoren Bivalirudin und Argatroban ist durch Bestimmung der Thrombininhibitionsrate möglich. Da die Therapieführung dieser Antikoagulanzen über die APTT erfolgt, wird eine Bestimmung der Plasmaspiegel nur in Einzelfällen durchgeführt.

Laboranalytische Diagnosepfade

Für die Auswahl der zur Beantwortung einer klinisch-hämostaseologischen Fragestellung zu bestimmenden Laborparameter sind die diagnostische Sensitivität und Spezifität entscheidend. Die diagnostische Sensitivität beschreibt die Wahrscheinlichkeit, mit der durch die Bestimmung des jeweiligen Analyten eine Hämostasestörung erkannt werden kann, wohingegen die diagnostische Spezifität die Wahrscheinlichkeit beschreibt mit der eine Hämostasestörung ausgeschlossen werden kann. Häufig wird in der laboranalytischen Hämostasediagnostik deswegen ein mehrstufiges Verfahren gewählt. In der Initialdiagnostik werden Testverfahren mit einer hohen diagnostischen Sensitivität eingesetzt, um eine mögliche Hämostaseerkrankung sensitiv zu erkennen und die betroffenen Hämostasekomponenten zu identifizieren. In einem zweiten Schritt wird dann die Verdachtsdiagnose überprüft. In dieser Phase werden schwerpunktmäßig Testverfahren mit einer hohen diagnostischen Spezifität eingesetzt.

In der klinischen Routine ist es hilfreich für die jeweiligen Fragestellungen Parameterprofile zu definieren, da meist eine Kombination aus verschiedenen Testverfahren in der Hämostaseanalytik eingesetzt wird. Am Beispiel einiger häufig auftretenden klinisch-hämostaseologischen Fragestellungen werden im Folgenden mögliche Profile diskutiert.

Testverfahren/Analyt		HD	TIC	ECMO	DIC	Thrombophilie
Thrombozytenzahl	EDTA	x	x	x	x	x
	Citrat	x ¹				
Platelet function analyser		x				
Multiplate		x				
Thrombozytenaggregation n. Born		x				
FACS-Glykoprotein						
von-Willebrand-Faktor-Antigen		x		x		
von-Willebrand-Faktor-GPIb-Bindung		x		x		
von-Willebrand-Faktor-Kollagen-Bindung		x				
von-Willebrand-Faktor-Multimeranalyse						
Thrombelastogramm			x			
Thromboplastinzeit		x	x	x	x	x
APTT		x	x	x	x	x
Thrombinzeit		x			x	
Reptilasezeit		x			x	
Faktor-VII-Aktivität						
Faktor-V-Aktivität						
Faktor-X-Aktivität						
Faktor-XI-Aktivität						
Faktor-VIII-Aktivität		x ²				x
Faktor-IX-Aktivität		x ²				
Faktor-II-Aktivität						
Fibrinogen		x	x	x	x	x
Faktor-XIII-Aktivität		x				
Antithrombin-Aktivität			x	x	x	x
Protein-C-Aktivität					x	x
Protein-S-Aktivität						x
dRVV-Ratio						x
KCT-Index						x
Antiphospholipid-Antikörper						x
Jak-2-Polymorphismus						x ³
PNH-Analytik						x ³
Prothrombin-G20210A-Mutation						x
Plasminogen-Aktivität						x
Alpha-2-Antiplasmin		x				
D-Dimer				x	x	x

Tab. 1: Laboranalytische Diagnosepfade. HD, hämorrhagische Diathese. TIC, trauma-induzierte Koagulopathie. ECMO, extrakorporale Membranoxigenierung (Blutung bei). DIC, disseminierte intravasale Gerinnung, x¹: falls im EDTA-Blut eine Thrombozytopenie gemessen wird, x²: bei männlichen Patienten, x³: bei ausgewählten Patienten. Quelle: eigene Darstellung des Autors.

Hämorrhagische Diathese

Besteht der Verdacht auf eine hereditäre hämorrhagische Diathese werden in der Initialdiagnostik die Parameter so gewählt, das möglichst alle Funktionsbereiche des Hämostasesystems erfasst werden, bei deren Dysfunktion eine Blutungsneigung zu erwarten ist (Tab. 1) (4, 5). Im Fall männlichen Patienten wird die Bestimmung der APTT

durch die Bestimmung der FVIII- und FIX-Aktivität ergänzt, da leichtere Einschränkungen nicht zwingend zu einer APTT-Verlängerung führen. Durch den Einsatz von Vollblut-basierten Thrombozytenfunktionstesten, wie der Impedanzaggregometrie und der PFA-Analytik, können erste Hinweise auf eine mögliche thrombozytäre Erkrankung gewonnen werden. Da beide Testverfahren aber nicht alle Thrombozytenfunktionsstörungen erfassen, sollte die Thrombozytenaggregation nach Born Bestandteil der Initialdiagnostik sein.

Trauma-induzierte Koagulopathie (TIC)

Schwere Traumata gehen mit einer Häufigkeit von mehr als 50% mit der Entwicklung einer Gerinnungsstörung einher. Diese Trauma-induzierte Koagulopathie (TIC) erhöht die Morbidität und das Mortalitätsrisiko. Aufgrund des perakuten Krankheitsverlaufs mit schnellen Veränderungen des klinischen Bildes und damit des Schweregrades der TIC, sind hier möglichst schnelle "turn-around"-Zeiten erforderlich. Deswegen kommen in der Diagnostik der TIC auch POCT-Verfahren, wie das Thrombelastogramm, zum Einsatz (6). In Tabelle 1 sind relevante TIC-Parameter zusammengefasst. Ein besonders relevanter Parameter ist die Fibrinogenkonzentration, da im Fall einer TIC das Fibrinogen besonders schnell kritische Werte erreicht (7).

ECMO-assoziierte Blutung

Patienten die mit einer extrakorporalen Membranoxygenation (ECMO) behandelt werden, haben meist aufgrund ihrer Grunderkrankung ein erhöhtes Blutungsrisiko. Beispielsweise kann es bei einer schweren Pneumonie zu einer schweren Thrombozytopenie kommen. Gleichzeitig erfordert der Einsatz der ECMO eine antikoagulatorische Behandlung, um Thrombosen im ECMO-System zu vermeiden. Mit der Gerinnungsanalytik soll bei ECMO-Patienten das Gerinnungspotenzial erfasst und gleichzeitig die Antikoagulationsstärke gemessen werden. Darüber hinaus ist eine Bestimmung der vWF-Konzentration und der funktionellen vWF-Konzentration mit einem vWF-Bindungsassay sinnvoll, um eine erworbene vWE zu erkennen, die in der ECMO-Behandlung häufig ist und eine Blutungsneigung verstärken kann.

Disseminierte intravasale Gerinnung (DIC)

Die DIC wird durch eine Grunderkrankung ausgelöst, die zu einer systemischen Gerinnungsaktivierung führt. Als Folge dieser systemischen Gerinnungsaktivierung kommt es zur Bildung von löslichem Fibrin, das im kapillären System präzipitieren kann und dadurch zu einer thrombotischen Verlegung der Mikrozirkulation führt (8). Dadurch kommt es zu Organdysfunktionen. Insbesondere Niere und Lunge sind von solchen mikrothrombotischen Funktionsstörungen betroffen. Gleichzeitig kommt es durch den Verbrauch der Gerinnungsfaktoren und durch eine gesteigerte sekundäre Fibrinolyse zu einer Blutungsneigung (9).

Bei Vorliegen einer zur Ausbildung einer DIC prädisponierenden Grunderkrankung, ist es das Ziel der Gerinnungsdiagnostik die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer DIC zu

bestimmen. Dazu gibt es einen validierten DIC-Score, der die Parameter Fibrinogen, Thrombozytenzahl, D-Dimer und die Thromboplastinzeit umfasst. Zusätzlich relevante Parameter sind die Antithrombin-Konzentration und die PC-Konzentration.

Thrombophilie-Diagnostik

Der Thrombophilie-Diagnostik werden alle Parameter zugeordnet, die das Thromboserisiko unabhängig von exogenen Risikofaktoren erhöhen. Etablierte thrombophile Risikofaktoren sind der Antithrombin-Mangel, der Protein-C-Mangel, der Protein-S-Mangel, die APC-Resistenz, die Prothrombin-G20210A-Mutation und Antiphospholipid-Antikörper (10, 11).

Im Fall von Patienten mit Thrombosen im Portal- und Splanchnikusstromgebiet ist eine Bestimmung der somatischen Jak-2-Mutation sinnvoll, da Jak-2-positive Patienten ein hohes Risiko für diese Thromboselokalisation tragen (12). Die PNH-Diagnostik ist ein weiterer thrombophiler Parameter, der bei Patienten mit ansonsten nicht erklärbarer Thromboseneigung bestimmt werden sollte. Der D-Dimer ist ein hilfreicher Parameter, um das Thromboserisiko nach Beendigung einer längerfristigen antikoagulatorischen Behandlung einzuschätzen (13).

Highlight 1: Genom-weite Exonanalyse in der Diagnostik hämorrhagischer Diathesen

Saes JL, Simons A, de Munnik SA, Nijziel MR, Blijlevens NMA, Jongmans MC, van der Reijden BA, Smit Y, Brons PP, van Heerde WL, Schols SEM. Whole exome sequencing in the diagnostic workup of patients with a bleeding diathesis. *Haemophilia*. 2019; 25: 127-135.

(14)

Hintergrund

Die Diagnose einer hämorrhagischen Diathese unklarer Genese wird gestellt, wenn trotz eines eindeutigen klinischen Phänotyps einer Blutungsneigung keine zugrundeliegende Störung des Hämostasesystems nachgewiesen werden kann. Möglicherweise kann in dieser Situation der Einsatz des Next-generation-Sequencing einen Fortschritt erbringen.

Methodik

In die diagnostische Studie wurden 17 Patienten mit einer Thrombozytopenie, 19 Patienten mit einer Thrombozytenfunktionsstörung und 51 Patienten mit einer hämorrhagischen Diathese unklarer Genese eingeschlossen. Bei allen eingeschlossenen Patienten wurde die gesamte Exonsequenz ("whole exon sequencing" (WEO)) von 126 Genen untersucht, die im "Online Mendelian Inheritance in Man"-Register als Hämostase-relevant beschrieben werden. Wurde bei diesem Vorgehen keine Mutation nachgewiesen, erfolgte eine Ausdehnung der Untersuchung auf alle Exonstrukturen.

A2M ^a	CTLA4 ^a	FERMT3	ITGA2B	PLAU	SRC ^a
ABCG5	CYCS	FGA	ITGB3	PLG	STIM1
ABCG8	DGKE ^a	FGB	JAK2 ^a	PRKACG	STXBP2
ACTN1	DIAPH1 ^a	FGG	KLKB1	PROC	TALDO1 ^a
ACVRL1 ^b	DNASE1 ^a	FLI1	KNG1 ^a	PROS1	TBXA2R
ADAMTS13 ^a	DTNBP1	FLNA	KRAS ^a	PROZ	TBXAS1
ANKRD26	ENG ^b	GATA1	LMAN1	PTGS1	THBD
ANO6	ETV6	GFI1B	LYST	PTPN11 ^a	THPO
AP3B1	F10	GGCX	LZTR1 ^a	PTPN22 ^a	TREX1 ^a
BLOC1S3	F11	GP1BA	MASTL	RAB27A	TUBB1 ^a
BLOC1S6	F12	GP1BB	MCFD2	RAF1 ^a	VIPAS39
BRAF ^a	F13A1	GP6	MECOM ^a	RASGRP2	VKORC1
C3 ^a	F13B	GP9	MPL	RBM8A	VPS33B
CALR	F2	HABP2	MTHFR	RIT1 ^a	VWF
CBL ^a	F2RL3 ^a	HOXA11	MYH9	RUNX1	WAS
CD46 ^a	F5	HPS1	NBEA ^a	SERPINC1	WIPF1
CFB ^a	F7	HPS3	NBEAL2	SERPIND1	
CFH ^a	F8	HPS4	NRAS ^a	SERPINE1	
CFHR1 ^a	F9	HPS5	P2RX1	SERPINF2	
CFHR3 ^a	FCGR2A ^a	HPS6	P2RY12	SLFN14 ^a	
CFI ^a	FCGR2B ^a	HRG	PLA2G4A ^a	SOS1 ^a	
COL3A1	FCGR2C ^a	ITGA2	PLAT	SOS2 ^a	

Genes involved in Mendelian inherited haemostatic and thrombotic disorders were selected (megakaryopoiesis, coagulation factors, fibrinolysis, platelet function and formation, thrombosis, blood vessel integrity).

^aAdded at first revision.

^bAdded at second revision.

Tab. 2: Im Panel untersuchte Gene. Aus: Saes et al. Whole exome sequencing in the diagnostic workup of patients with a bleeding diathesis. Haemophilia. 2019; 25: 127-135 (15).

Ergebnisse

In 15 der 87 untersuchten Patienten konnten 18 Mutationen in Hämostase-relevanten Genen nachgewiesen werden (Abb. 1). Darunter befanden sich Mutationen im MYH9-Gen und in den Genen SLFN, P2RY12, GP9, F2, F8 und vWF (Tabelle 3). Bei 3 Patienten konnten Mutationen in mehr als einem Gen nachgewiesen werden. Mit einer Erweiterung der Diagnostik auf alle Exonstrukturen konnte bei 3 von 54 Patienten eine Mutation identifiziert werden.

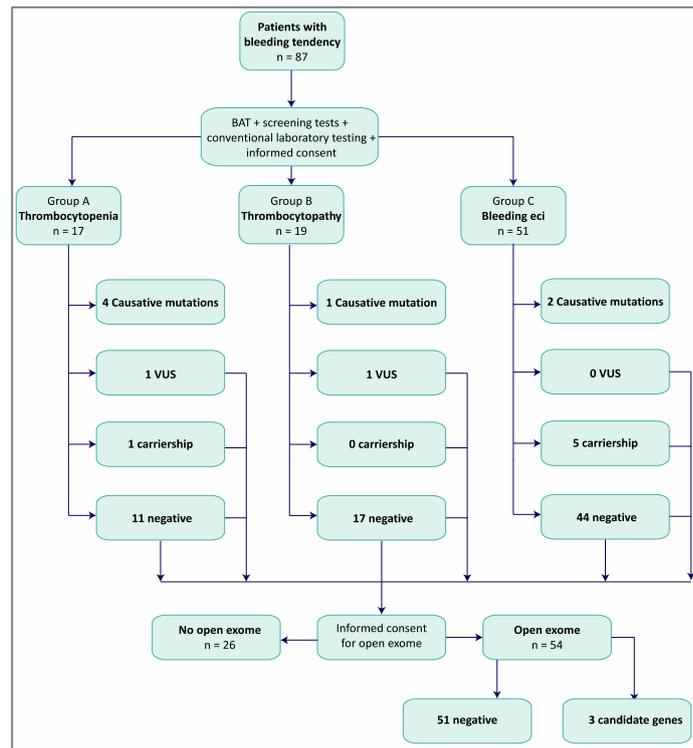


Abb. 1: Flussdiagramm der Patienten in der Studie. Aus: Saes et al. Whole exome sequencing in the diagnostic workup of patients with a bleeding diathesis. Haemophilia. 2019; 25: 127-135 (15).

Patient	Gene	Transcript	Variant ^a	Class	AF gnomAD, %
1	MYH9	NM_002473.4	c.287C>T p.Ser96Leu	5 ⁴¹⁻⁴⁶	0
2	MYH9	NM_002473.4	c.3493C>T p.Arg1165Cys	5 ^{15,47-50}	0
3	SLFN14	NM_001129820.1	c.657A>C p.Lys219Asn	5 ²⁶	0
4	GP9	NM_000174.3	c.182A>G p.Asn61Ser ^b	5 ⁵¹⁻⁵³	0.052
5	P2RY12	NM_022788.4	c.772C>A p.Pro258Thr ^b	5 ⁵⁴⁻⁵⁶	0.0032
6	F7	NM_000131.4	c.1061C>T p.Ala354Val	4 ^{57,58}	0.057
6	F13A1	NM_000129.3	c.949G>T p.Val317Phe	4 ⁵⁹	0.00041
7	F2	NM_000506.3	c.260A>G p.Tyr87Cys	5 ⁶⁰	0.00081
7	F8	NM_000132.3	c.2150G>T p.Arg717Leu ^c	5 ⁶¹⁻⁶⁴	0
7	VWF	NM_000552.3	c.2561G>A p.Arg854Gln	5 ⁶⁵⁻⁶⁸	0.34
8	GFI1B	NM_004188.6	c.521C>A p.Thr174Asn	3	0.012
9	VWF	NM_000552.3	c.695C>T p.Ser232Leu	3	0.0012
10	FGG	NM_021870.2	c.323C>G p.Ala108Gly	4 ^{29,69-73}	0.20
11	GP1BA	NM_000173.5	c.275del p.Leu92fs	5 ⁷⁴⁻⁷⁹	0
12	MPL	NM_005373.2	c.305G>C p.Arg201Pro	5 ⁸⁰	0.038
13	F2	NM_000506.3	c.260A>G p.Tyr87Cys	5 ⁶⁰	0.00081
14	F5	NM_000130.4	c.6526A>T p.Lys2176 Stop	5 ^{81,82}	0
15	F11	NM_000128.3	c.403G>T p.Glu135 Stop	5 ⁸³⁻⁸⁷	0.088

In bold patients from case descriptions 1-4.

^aVariant nomenclature according to HGVS guidelines (<https://varnomen.hgvs.org/>).

^bHomozygous.

^cPatient is female. Allele frequencies in the gnomAD database (<https://gnomad.broadinstitute.org>) are listed.

Tab. 3: Gen-Varianten, die in der Panel-Untersuchung gefunden wurden. Aus: Saes et al. Whole exome sequencing in the diagnostic workup of patients with a bleeding diathesis. Haemophilia. 2019; 25: 127-135 (15).

Kommentar

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in zweierlei Hinsicht interessant. Zum einen zeigen sie, dass mit der Methode des WEO bisher unbekannte genetische Ursachen für eine hämorrhagische Diathese erkannt werden können. Damit stellt das WEO in ausgewählten Fällen eine Ergänzung zum bisherigen diagnostischen Vorgehen dar. Zum anderen zeigen die Untersuchungsergebnisse aber auch, dass selbst bei einer Ausdehnung der Mutationssuche auf das gesamte Exom in einem Großteil der Patienten mit einer hämorrhagischen Diathese die zugrundeliegende Ursache nicht identifiziert wird.

Literatur

1. Lippi G, Favaloro EJ. Preanalytical Issues in Hemostasis and Thrombosis Testing. *Methods Mol Biol.* 2017; 1646: 29-42
2. Dalton KA, Aucoin J, Meyer B. Obtaining coagulation blood samples from central venous access devices: a review of the literature. *Clin J Oncol Nurs.* 2015; 19: 418-423
3. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. *Deutsches Ärzteblatt.* 2014; 111(38): A1583-AA1618.
4. Calmette L, Clauser S. [Von Willebrand disease]. *Rev Med Interne.* 2018; 39 (12): 918-924
5. Saes JL, Schols SEM, van Heerde WL, Nijziel MR. Hemorrhagic disorders of fibrinolysis: a clinical review. *J Thromb Haemost.* 2018; 16 (8), 1498-1509
6. Blaine KP, Steurer MP. Viscoelastic Monitoring to Guide the Correction of Perioperative Coagulopathy and Massive Transfusion in Patients with Life-Threatening Hemorrhage. *Anesthesiol Clin.* 2019; 37(1): 51-66
7. Paydar S, Dalfardi B, Shayan Z, Shayan L, Saem J, Bolandparvaz S. Early Predictive Factors of Hypofibrinogenemia in Acute Trauma Patients. *J Emerg Trauma Shock.* 2018; 11(1): 38-41
8. Levi M. Pathogenesis and diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Int J Lab Hematol.* 2018; 40 (Suppl 1): 15-20
9. Laursen MA, Larsen JB, Hvas AM. Platelet function in disseminated intravascular coagulation: A systematic review. *Platelets.* 2018; 29 (3): 238-248
10. Connors JM. Thrombophilia Testing and Venous Thrombosis. *N Engl J Med.* 2017; 21; 377 (12): 1177-1187
11. Montagnana M, Lippi G, Danese E. An Overview of Thrombophilia and Associated Laboratory Testing. *Methods Mol Biol.* 2017; 1646: 113-135
12. Zarrouk M, Salim S, Elf J, Gottsäter A, Acosta S. Testing for thrombophilia in mesenteric venous thrombosis - Retrospective original study and systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2017; 31 (1): 39-48
13. Thachil J, Lippi G, Favaloro EJ. D-Dimer Testing: Laboratory Aspects and Current Issues. *Methods Mol Biol.* 2017; 1646: 91-104
14. Saes JL, Simons A, de Munnik SA, Nijziel MR, Blijlevens NMA, Jongmans MC, van der Reijden BA, Smit Y, Brons PP, van Heerde WL, Schols SEM. Whole exome sequencing in the diagnostic workup of patients with a bleeding diathesis. *Haemophilia.* 2019; 25: 127-135.

Von-Willebrand-Erkrankung

Prof. Dr. Johanna Kremer Hovinga

Hämostase Forschungslabor

Universitätsklinik für Hämatologie und Hämatologisches Zentrallabor

E-Mail: Johanna.Kremer@insel.ch

Das Paper von Prof. Kremer Hovinga konnte leider nicht rechtzeitig für die Drucklegung vorgelegt werden.

Wir behalten uns vor, Ihnen den Beitrag von Prof. Kremer Hovinga im Nachgang zu den Highlights 2019 als PDF-Datei zuzuleiten.

Hämophilie A und B

Prof. Dr. Christoph Male

Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde

Medizinische Universität Wien

E-Mail: christoph.male@meduniwien.ac.at

State of the Art	3
Highlight 1: Wirksamkeit der späten Prophylaxe (SPINART Study).....	8
Highlight 2: Unterschiedliche Immunogenität von plasmatischen und rekombinanten Faktor VIII Produkten bei unbehandelten Knaben mit schwerer Hämophilie A.....	12
Literatur	16

State of the Art

Die Fakten

Die angeborene Hämophilie ist eine X-chromosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die mit einer Häufigkeit von etwa 1:5.000 (Hämophilie A) bzw. 1:30.000 (Hämophilie B) aller männlichen Personen vorkommt (1). Als Ursache der Hämophilie A sind mehr als 2300 Mutationen im Faktor VIII Gen bekannt, die zur quantitativen oder qualitativen Verminderung von FVIII im Plasma führen. Die häufigen Inversionen im Intron 22 sowie Intron 1 machen fast der Hälfte aller Mutationen mit schwerer Hämophilie A aus. Für Hämophilie B sind mehr als 1100 Mutationen im FIX Gen bekannt, am häufigsten missense, nonsense, und splice-site Mutationen (2). Etwa ein Drittel aller Hämophilieerkrankungen kommen durch Spontanmutationen zustande.

Hämophilie A und B zeigen die gleichen *klinischen Manifestationen*. Der klinische Schweregrad korreliert relativ gut mit der Basisaktivität des FVIII bzw. FIX Spiegels des Patienten: Schwere Hämophilie (Faktoraktivität <1%) führt zu häufigen, spontanen Blutungen, mittelschwere Hämophilie (1-5%) seltener zu spontanen Blutungen, leichte Hämophilie (5-40%) zu verstärkter Blutungsneigung zumeist nur im Rahmen von Verletzungen oder Operationen (3, 4). Ein kleiner Anteil von Patienten mit schwerer Hämophilie hat einen milderen klinischen Phänotyp mit selteneren Blutungen, während auch ein Teil der Patienten mit mittelschwerer und leichter Hämophilie eine schwerere Blutungsneigung haben können. Die Variabilität im Phänotyp können teils durch die Mutation im FVIII/FIX Gen, teils andere Faktoren, wie die Blutgruppe oder das Vorhandensein thrombophiler Dispositionen erklärt werden (5). Über endogene Faktoren hinaus beeinflussen auch Verhaltens- und Umgebungsfaktoren (Aktivität, Vorsicht, Protektivität der Eltern) den Blutungsphänotyp. Der beste Marker für den Blutungsphänotyp ist das Alter bei der ersten Gelenksblutung (6).

Die häufigste Form der Blutung bei schwerer Hämophilie ist die Gelenksblutung, die auch die größte Bedeutung für Langzeitschäden hat. Seltener kommen Muskelblutungen vor, die mit schweren akuten Komplikationen einhergehen können. Andere Blutungen in innere Organe (Niere, Gastrointestinal, ZNS) sind insgesamt deutlich seltener, vor allen intrakranielle Blutungen haben jedoch eine hohe Morbidität und Mortalität.

Die akute Gelenksblutung führt zum intrakapsulären Bluterguss, mit Schwellung, Erwärmung, Schmerzen und Bewegungseinschränkung, die sich nach Sistieren und Resorption der Blutung langsam zurückbilden. Die intra-artikuläre Blutansammlung führt zur Inflammation, die wiederholte Einblutungen begünstigt, was zur chronischen Synovitis führt, mit Erguss, Proliferation, Fibrosierung, und zunehmender Destruktion von Knorpel und Knochen führt (hämophile Arthropathie) (7).

Hauptsäule der *Behandlung* ist die Substitution mit Einzelfaktorkonzentrat (FVIII oder IX). Eine Alternative für Patienten mit leichter Hämophilie A ist die Gabe von Desmopressin, das über Ausschüttung endogener Speicher zu vorübergehendem Anstieg des FVIII Spiegels führt. Als adjuvante Therapie werden Fibrinolysehemmer, wie Tranexamsäure, gegeben, die vor allem bei Schleimhautblutungen gut wirksam sind. Einen hohen Stellenwert hat auch die physikalische Therapie, sowohl bei akuten Gelenksblutungen zur Entlastung und Mobilisierung, als auch bei chronischer

Arthropathie zur Optimierung der Beweglichkeit und Muskelaufbau. Nicht zuletzt ist auch eine adäquate Schmerztherapie für Hämophile essentiell (8).

Die Substitutionstherapie erfolgt i) zur Behandlung akuter Blutungen (Bedarfsbehandlung), ii) als regelmäßige Substitution zur Vorbeugung von Blutungen (Prophylaxe) und iii) für die perioperative Substitution. Für diese Behandlungsformen und diverse Blutungslokalisationen sind verschiedene FVIII/IX Zielplasmaspiegel erforderlich, an denen sich Dosierung und Dosierungsintervall orientieren (Tabelle 1) (9).

Blutungsart	Zielspiegel (IU/dl)		Dosierungsintervall (h)	Therapiedauer (Tage)	Kommentar
	Spitzenspiegel (initial)	Talspiegel (Erhaltung)			
Gelenk	40–60	5–10	12–24	1–2, ggf. länger	Bei großen Einblutungen sind höhere Talspiegel anzustreben
Muskel	40–60	5–10	12–24	2–3, ggf. länger	Bedrohliche Muskelblutungen (z. B. drohendes Kompartmentsyndrom) sind wie die Iliopsoas-Blutung zu behandeln
Iliopsoas	80–100	30–60	12	3–5, ggf. länger	
ZNS-Blutung bzw. andere lebens- oder organbedrohliche Blutung	> 100	50–80	8–12	Tag 1–7	Dauer abhängig von Ausdehnung und Resorption
		30–50	12–24	Tag 8–21	
Gastrointestinal	80–100	30–60	12–24	3–14	
Niere	50	15–30	24	3–5	
Tiefe RQW oder Kontusion	50	5–10	12–24	5–7	
Große Eingriffe	80–100 (präOP)	60–80	8–12	Tag 1–3	
		40–60	12–24	Tag 4–6	
		30–50	24	Tag 7–14	
Kleine Eingriffe	50–80 (präOP)	30–80	12–24	1–5	Abhängig von der Art des Eingriffs

Tab. 1: Empfehlungen für FVIII/IX-Spiegel, aus „Hämophiliebehandlung in Österreich“ Konsensusreport 2015 (9), adaptiert nach WFH-Leitlinie 2013 (8).

Für die Prophylaxe mit konventionellen Faktorkonzentraten werden Dosen von 25-40E/kg Körpergewicht FVIII mindestens 3 mal pro Woche (FVIII) bzw. 2 mal pro Woche (FIX) empfohlen.

Die *Faktorkonzentrate* haben in den letzten Jahrzehnten immense Entwicklungen erlebt, von Fresh Frozen Plasma, Kryopräzipitat, plasmatischen Faktorkonzentrate, Virusinaktivierung, zu rekombinanten Faktorkonzentraten, rekombinanten Faktoren aus humanen Zelllinien, molekularen Modifikationen zur Verlängerung der Wirkdauer und potentiellen Verminderung der Immunogenität. Zuletzt sind auch Nicht-Faktor-basierte Therapieoptionen und Gentherapie verfügbar bzw. in Entwicklung. Eine Diskussion aktueller Innovationen in der Hämophilietherapie erfolgt im nächsten Kapitel (A. Tiede).

Die wichtigste *Nebenwirkung* der Faktorsubstitution ist die Entwicklung von Hemmkörpern (Inhibitoren) gegen den zugeführten Faktor, die bei 30-40% von Patienten mit schwerer Hämophilie A und 3-10% von Patienten mit schwerer Hämophilie B auftreten, seltener bei mittelschwerer und leichter Hämophilie. Weitere Nebenwirkungen sind anaphylaktische Reaktionen, häufiger bei Hämophilie B und im Zusammenhang mit Inhibitoren. Das Risiko der Übertragung von Virusinfektionen durch Faktorkonzentrat ist heute extrem gering geworden. Indirekte Behandlungskomplikationen entstehen in Zusammenhang mit zentralen Venenzugängen (Infektionen, Thrombosen, etc.).

Inhibitoren sind neutralisierende Antikörper gegen FVIII/FIX, die zur Inaktivierung von verabreichtem Faktor führen. Bei niedrig-titrigen Inhibitoren ist eine Substitution mit erhöhten Faktordosen eventuell möglich. Bei hoch-titrigen Inhibitoren ist die Blutstillung mit FVIII/IX Konzentraten unmöglich, und die Behandlung akuter Blutungen und perioperative Substitution muss mit sogenannten by-passing agents (aktiviertes Prothrombinkomplekonzentrat, rFVIIa, porciner FVIII) erfolgen, die schlecht steuerbar sind und eine weniger verlässliche Wirkung haben als FVIII/IX. Auch eine Prophylaxe ist mit diesen Substanzen weniger wirksam. Zur Inhibitorelimination wird eine Immuntoleranztherapie mit hochdosierter täglicher Faktorsubstitution durchgeführt, in therapieresistenten Fällen eine immunsuppressive Therapie (10).

Herausforderungen für die Hämophiliebehandlung heute

Trotz der hohen Wirksamkeit und breiten Verfügbarkeit von Faktorkonzentrat gibt es heute immer noch eine Reihe von Herausforderungen in der Hämophilietherapie, von denen einige im Folgenden ausführlicher diskutiert werden.

- Optimale Prophylaxe
- Venenzugang
- Inhibitorentwicklung und -management
- Auswahl des Faktorkonzentrates (siehe nächstes Kapitel)
- Kosten, Globale Versorgung

Optimale Prophylaxe

Die Wirksamkeit einer regelmäßigen Faktorprophylaxe wurde erstmals in Schweden systematisch dokumentiert (11). Der definitive Nachweis der Überlegenheit der Prophylaxe gegenüber Bedarfstherapie in der Reduktion von Gelenksblutungen und Entwicklung einer hämophilen Arthropathie gelang 2007 bei Kindern (12). Weitere Vorteile der Prophylaxe sind die Risikoreduktion für lebensbedrohliche Blutungen (z.B. Gehirnblutungen), die bessere Lebensqualität aufgrund seltenerer Blutungen (weniger Schmerzen, bessere Funktionalität) und ein niedrigeres Inhibitorrisiko.

Herausforderungen ergeben sich für den Venenzugang, Adhärenz und die Kosten.

Nach einem rezenten Survey in verschiedenen europäischen Ländern beträgt die Häufigkeit der Prophylaxe bei Kindern 70-100%, während sie bei älteren Erwachsenen zwischen 20-100% variiert (13). Ein Survey aus den USA zeigte, dass 2010 etwa 75% der Kinder und Jugendlichen Prophylaxe erhielten, während bei über 30-Jährigen Prophylaxe in weniger als 30% gegeben wurde (14).

Für Kinder wird heute eine primäre Prophylaxe (spätestens nach der ersten Gelenksblutung und/oder vor dem Alter von 3 Jahren) als State-of-the-Art betrachtet (15). Diskussion besteht jedoch noch darüber, wann und wie die Prophylaxe beim Kleinkind gestartet und wie sie im Weiteren individuell angepaßt werden soll. Es gibt verschiedene Philosophien für den Start der Prophylaxe, die eine optimale Wirksamkeit

in der Prävention von Gelenkschäden gegenüber praktischer Machbarkeit und Ökonomie abwägen: Das ‚schwedische Modell‘ forciert einen frühen Prophylaxestart in voller Dosis, was aber zumeist einen zentralen Venenzugang erfordert, während andere Modelle, zB. das ‚kanadische Modell‘, eine individuelle Eskalation nach Blutungshäufigkeit vorsehen. Nach Etablieren einer volldosierten Prophylaxe werden im Weiteren Kriterien wie Alter, Gewicht, die individuelle Blutungshäufigkeit, die körperliche Aktivität, eine bestehende Synovitis bzw. Arthropathie zur Optimierung der Prophylaxe herangezogen (16). Messungen zur individuellen Faktor-Pharmakokinetik eines Patienten können auch zur Individualisierung und Ökonomisierung der Prophylaxe beitragen, wobei das Anstreben bestimmter Plasmafaktorspiegel nur als ein Kriterium neben den oben genannten Faktoren betrachtet werden sollten.

Durch die Verfügbarkeit von Faktorkonzentraten mit verlängerter Halbwertszeit (*extended half-life*, EHL) haben sich neue Prophylaxeregimes ergeben, insbesondere für FIX-Konzentrate, die nur noch alle 1-2 Wochen verabreicht werden müssen, während EHL FVIII-Konzentrate üblicherweise noch mehrmals pro Woche erforderlich sind. EHL-Produkte erleichtern auch den Prophylaxestart im Säuglingsalter, wobei beachtet werden muss, dass alle Faktorkonzentrate bei Kindern kürzere Halbwertszeiten haben und für dieses Alter die Datenlage zu EHL dürftiger ist.

Zur Frage der Wirksamkeit einer späten, erst im Adoleszenten- oder Erwachsenenalter begonnenen Prophylaxe, siehe Highlight 1.

Herausforderung Venenzugang

Die Notwendigkeit der intravenösen Substitution konventioneller Faktorprodukte stellt oft eine praktische Herausforderung für eine effektive Hämophilietherapie dar. Primäre Wahl für den Venenzugang ist die periphere Venenpunktion, die aber vor allem bei Kleinkindern, beim Etablieren einer Prophylaxe, und im Besonderen für die häufigen Substitutionen unter einer Immuntoleranztherapie schwierig ist. Bei problematischer Venensituation werden weltweit am häufigsten zentrale Venenkatheter (Ports, Broviac/Hickman) verwendet, insgesamt bei etwa 30% der Hämophiliepatienten, mit großen Häufigkeitsunterschieden zwischen Hämophiliezentren (17). Zentrale Zugänge haben ein relevantes Risiko für Komplikationen, wie Infektionen, Thrombosen, mechanische Katheterkomplikationen. Eine gute Alternative stellen periphere arterio-venöse Shunts dar, die operativ an einem Arm angelegt werden und dort zur Kaliberzunahme der subkutanen Venen führen, was die periphere Venenpunktion erleichtert (18). AV-Shunts haben eine geringe Komplikationsrate und erlauben das frühzeitige Etablieren einer Prophylaxe, sowie frühzeitige Heimtherapie (19).

Inhibitorentwicklung

Inhibitoren sind bei Hämophilie A deutlich häufiger als bei Hämophilie B. Das höchste Risiko der Inhibitorentwicklung gegenüber FVIII von 30-40% besteht bei zuvor unbehandelten Patienten (PUPs) innerhalb der ersten 20-50 Expositionstage (ED), während das Risiko bei vorbehandelten Patienten (PTP) unter 1% liegt. Es gibt eine Reihe von endogenen Einflußfaktoren auf das Risiko einer Inhibitorentwicklung, wie

Ethnizität, FVIII Mutation, Familienanamnese für Inhibitor, etc., und exogene Faktoren, wie intensive Behandlungsepisoden, Prophylaxe, etc.

Seit langem gibt es Diskussion über die Frage, ob auch der FVIII-Produkttyp das Inhibitorrisiko beeinflussen kann? Hinweise dafür ergaben sich aus einer Meta-Analyse diverser Beobachtungsstudien, die ein höheres Inhibitorrisiko für rekombinante (rFVIII) als für plasmatische (pFVIII) FVIII-Konzentrate zeigte (20). Ein solcher Effekt konnte in einer großen Kohortenstudie (RODIN) nicht gezeigt werden (21), allerdings zeigte sich dort die Inhibitorinzidenz mit einem bestimmten rFVIII-Konzentrat (der 2. Generation) gegenüber anderen Konzentraten erhöht. Die randomisiert kontrollierte Studie (SIPPET) zeigte wiederum ein auf etwa das Doppelte erhöhtes Inhibitorrisiko von rFVIII gegenüber pFVIII-Konzentraten (22).

Weitere Evidenz zu dieser Frage konnte die rezente FrenchCoag PUP Studie erbringen, die als Highlight 2 diskutiert wird.

Highlight 1: Wirksamkeit der späten Prophylaxe (SPINART Study)

Manco-Johnson MJ, Lundin B, Funk S, Peterfy C, Raunig D, Werk M, Kempton CL, Reding MT, Goranov S, Gercheva L, Rusen L, Uscatescu V, Pierdominici M, Engelen S, Pocoski J, Walker D, Hong W. Effect of late prophylaxis in hemophilia on joint status: a randomized trial. *J Thromb Haemost.* 2017; 15 (11): 2115-2124.

(23)

Hintergrund

Die primäre Prophylaxe ist heute als optimale Therapie der Hämophilie im Kindesalter etabliert. Bei den meisten Hämophilen, die heute im Erwachsenenalter sind, wurde jedoch eine Prophylaxe nicht frühzeitig begonnen bzw. erhält ein relevanter Anteil der Erwachsenen weiterhin keine Prophylaxe. Zur Frage, ob auch eine später begonnene Prophylaxe wirksam ist, gab es bislang nur Querschnittsuntersuchungen von mäßiger Aussagekraft. Eine kleine prospektive Kohortenstudie (POTTER) beobachtete signifikant weniger jährliche Gelenksblutungen, weniger Zielgelenke, bessere Gelenkscores, bessere Lebensqualität, und mehr Teilnahme an Alltagsaktivitäten unter Prophylaxe verglichen mit Bedarfsbehandlung.(24) Die hier beschriebene randomisiert kontrollierte SPINART Studie hatte das Ziel, die Langzeiteffekte einer sekundären (nach mindestens 2 Gelenksblutungen) oder tertiären Prophylaxe (bereits Zeichen der Arthropathie) im Vergleich mit einer Bedarfsbehandlung endgültig zu klären (23).

Methodik

Es handelte sich um eine randomisiert kontrollierte, offene Studie, die in multiplen Zentren in den USA, Argentinien, Bulgarien, Rumänien zwischen 2008 und 2013 durchgeführt wurde. Eingeschlossen wurden Männer mit schwerer Hämophilie A (1-2% FVIII Aktivität erlaubt, wenn klinisch schwerer Phänotyp), mit mehr als 150 ED, keinem aktuellen oder vergangenen FVIII Inhibitor, keiner regelmäßigen Prophylaxe (länger als 12 Monate) in den letzten 5 Jahren, und 6-24 behandelten Blutungsereignissen in den letzten 6 Monaten. Patienten wurden in einer 1:1 Randomisierung entweder einer Prophylaxe mit 25 E/kg KG 3 Mal pro Woche (P), oder Bedarfstherapie (OD) zugewiesen.

Primärer Outcomeparameter war die Häufigkeit von Blutungsereignissen. Sekundäre Outcomes waren klinische Gelenkscores nach validiertem Score (CAJAS; zu Studienbeginn, nach 1, 2, 3 Jahren), sowie Magnetresonanzuntersuchungen (MRI) der 6 großen Gelenke (Ellbogen, Knie, Sprunggelenke) zu Studienbeginn und nach 3 Jahren, ausgewertet nach einem eigens validierten Score, der auch für schwere Gelenksveränderungen empfindlich ist. Weiters wurde die Lebensqualität mittels Hämophilie-spezifischem Score (Haemo-QoL) und generischem Score (EQ-5D-3L) erfasst, Schmerzen (Short-Form McGill Pain Questionnaire), die körperliche Aktivität, Inanspruchnahme medizinischer Leistungen, und Sicherheitsdaten, im Besonderen Inhibitorentwicklung.

Ergebnisse

Tabelle 2 zeigt die Basischarakteristika der Studienpatienten, die Blutungshäufigkeit und den Faktor VIII Verbrauch.

Table 1 Baseline characteristics, bleeding events during the study, and factor VIII exposure during the study

	On demand (n = 42)	Prophylaxis (n = 42)
Age (years)		
Median (range)	29 (17–48)	29 (15–50)
Race, n (%)		
White	38 (90.5)	38 (90.5)
Asian	1 (2.4)	1 (2.4)
Hispanic	3 (7.1)	3 (7.1)
Number of target joints/participant at baseline, n Median (range)	1.5 (0–7)	1.0 (0–5)
Participants with ≥ 1 target joint at baseline (%)	73.8	66.7
Follow-up days during the study		
Median (Q1; Q3)	1097 (1086; 1107)	1104.5 (1092; 1114)
Exposure days during the study		
Median (Q1; Q3)	155 (92; 205)	471 (433; 479)
Total bleeding events during the study (n)	4338	264
FVIII dose/infusion during the study (IU kg ⁻¹)		
Median (Q1; Q3)	27.8 (25.3; 33.9)	26.6 (26.0; 27.5)
FVIII consumption during the study (IU kg ⁻¹ per year)		
Median (Q1; Q3)	1700 (1124; 2263)	4102 (3904; 4312)

Q1, quartile 1; Q3, quartile 3. All participants had < 1.0% FVIII activity (FVIII:C), except for three participants (prophylaxis group) who had 1.1–1.3% FVIII:C.

Tab. 2: Baseline Daten. Aus (23)

Blutungsereignisse gesamt waren etwa 15 Mal häufiger in der OD Gruppe, im Median etwa 38 versus 0.7 Blutungen pro Patient pro Jahr Blutungen in der P Gruppe (Abb. 1).

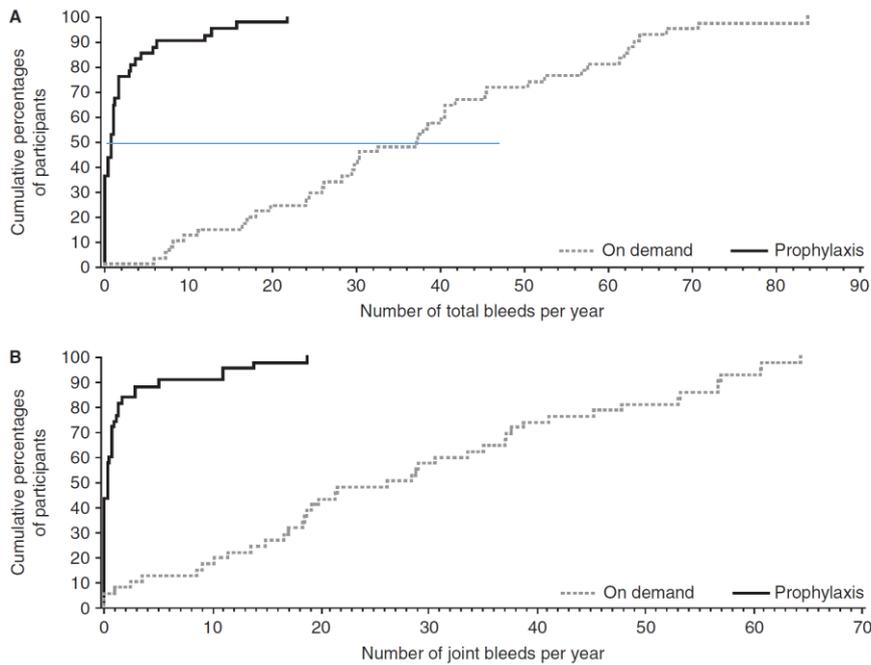


Abb. 1: Kummulative Verteilung der Blutungshäufigkeit pro Jahr für die Prophylaxegruppe versus der On-demand Gruppe. (A) Alle Blutungen, (B) Gelenksblutungen. Aus: (23)

In den klinischen Gelenkscores zeigte sich in der OD Gruppe eine Verschlechterung über die Studienperiode, während in der P Gruppe eine geringe Verbesserung beobachtet wurde (Abb. 2).

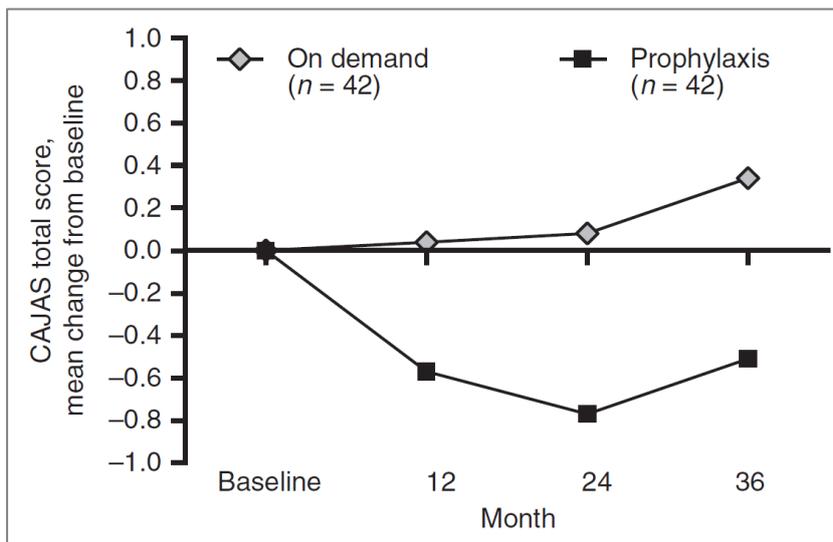


Abb. 2: Änderungen im Gelenkscore über die Studienperiode von 3 Jahren, Vergleich zwischen On-demand Gruppe und Prophylaxegruppe. Aus: (23)

Im MRI zeigten sich progressive Gelenksveränderungen zwischen Studienbeginn und Studienende, wobei keine relevanten Gruppenunterschiede zu beobachten waren,

lediglich erschienen in der jüngsten Gruppe die Zunahmen in den Gelenkscores nicht so ausgeprägt (Abb 3.).

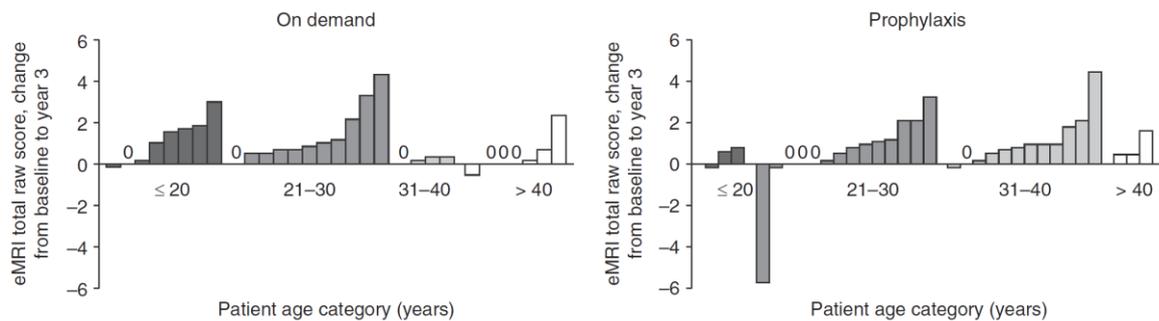


Abb. 3: Änderungen im MRI Score zwischen Studienbeginn und 3 Jahren, nach Altersgruppen, Vergleich zwischen On-demand Gruppe und Prophylaxegruppe. Aus: (23)

Die Lebensqualität zeigte in der P Gruppe insgesamt eine Verbesserung über die Studienperiode, während sie in der OD Gruppe keine Änderungen oder Verschlechterung zeigte (Abb 4). Schmerzscores zeigten eine Reduktion in der P Gruppe, während sie in der OD Gruppe keine Veränderung zeigten. Auch das Aktivitätsausmaß und der Anteil von Patienten mit uneingeschränkter Teilnahme an Schule/Arbeit und Freizeitaktivitäten verbesserte sich in der P Gruppe im Vergleich zur OD Gruppe. Die Inanspruchnahme medizinischer Leistungen war in der OD Gruppe höher als in der P Gruppe. Unerwünschte Ereignisse im Zusammenhang mit der Behandlung gab es keine; es wurden keine neuen Inhibitoren beobachtet.

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Studie beobachtete eine deutliche Reduktion der Blutungsfrequenz unter P, die über 3 Jahre erhalten blieb, bei sehr guter Adhärenz mit dem Behandlungsregime. Laut MRI hatten alle Patienten bereits zu Studienbeginn Zeichen der Arthropathie, die während der Studie zunahmen, ohne eindeutige Unterschiede zwischen den Gruppen. Daraus ergibt sich, dass bestehende strukturelle Gelenksveränderungen durch P nicht mehr aufgehoben oder rückgängig gemacht werden kann. Allerdings zeigte sich unter P eine deutliche Verbesserung der funktionellen Gelenkscores. Zudem bedingte P Verbesserungen in der Lebensqualität, Schmerzen, Aktivität, Teilnahme an Beruf und Freizeitaktivitäten, und verminderter Inanspruchnahme medizinischer Leistungen.

Auf Basis dieser positiven Effekte kann Prophylaxe auch beim Erwachsenen als State-of-the-art Behandlung empfohlen werden. Jedoch sollte P so früh wie möglich begonnen werden, optimalerweise bevor relevante Gelenksschäden bestehen.

Highlight 2: Unterschiedliche Immunogenität von plasmatischen und rekombinanten Faktor VIII Produkten bei unbehandelten Knaben mit schwerer Hämophilie A

Calvez T, Chambost H, d'Oiron R, Dalibard V, Demiguel V, Doncarli A, Gruel Y, Huguenin Y, Lutz P, Rothschild C, Vinciguerra C, Goudemand J. Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *Haematologica*. 2018; 103 (1): 179-189.

(25)

Hintergrund:

Die Inhibitorentwicklung bei PUPs ist immer noch die größte Herausforderung der Hämophilietherapie, und weiterhin gibt es rege Diskussion, über welche beeinflussbaren Faktoren das Inhibitorrisiko minimiert werden kann.

Methodik

Nationales Pharmakovigilanzsystem für Hämophilieprodukte in Frankreich (FrenchCoag) seit 1994; Subkohorte von PUPs mit schwerer/mittelschwerer Hämophilie A (FVIII <2%); Studieneinschluß bis zur Erstbehandlung, detaillierte Daten zu Familienanamnese, Ethnik, Hämophilie-Genotyp, Behandlungsdetails in den ersten 75 ED, schwere Blutungsepisoden, Operationen, etc. Die Analyse beschränkte sich auf Patienten mit schwerer Hämophilie in der Periode von 2001-2016, die mit einem der 3 häufigst verabreichten FVIII Konzentrate erstbehandelt wurden (pFVIII: Factane; rFVIII: Advate, Kogenate FS/Helixate Nex Gen).

Outcome war die kumulative Inhibitorinzidenz bis zum 75. ED in folgenden Kategorien: alle klinisch relevanten Inhibitoren (>0.6 Bethesda Units/mL), hoch-titrige Inhibitoren (>5.0 BU/mL) und ‚behandelte‘ Inhibitoren (Behandlung mit Bypassing Agents und/oder Immuntoleranztherapie).

Die kumulative Inhibitorinzidenz wurde zwischen den Behandlungsgruppen mit einem der oben genannten FVIII Konzentrate verglichen. Es wurde nur das initial verwendete Produkt berücksichtigt; Patienten, die auf ein anderes Produkt wechselten, wurden zu diesem Zeitpunkt zensuriert. Um Unterschiede zwischen den Gruppen bezüglich anderer Risikofaktoren für die Inhibitorentwicklung zu berücksichtigen, erfolgte eine umfangreiche Adjustierung für mittels Cox proportional hazard models, propensity score Matching und Sensitivitätsanalysen.

Ergebnisse

Es wurden 395 PUPs aus 35 französischen Zentren entsprechend den oben genannten Kriterien eingeschlossen, die 18244 ED bzw. 560 Personen-Jahre Beobachtungszeit beitrugen. Tabelle 3 zeigt Patientencharakteristika im Vergleich der Behandlungsgruppen mit den analysierten FVIII Produkten. Unterschiede zwischen den Gruppen fanden sich bezüglich der Behandlungsperioden und in der Verteilung der FVIII Mutationstypen.

Table 1. Patients' characteristics according to the factor VIII product received.

Fixed risk factors	Factane (N = 131)	Advate (N = 137)	Kogenate (N = 127)	P
<i>F8</i> gene defect — no. (%)				0.009
Low risk	37 (28.2)	33 (24.1)	27 (21.3)	
High risk*	83 (63.4)	97 (70.8)	100 (78.7)	
Undetermined (e.g., not yet tested, unidentified)	11 (8.4)	7 (5.1)	0 (0.0)	
High-risk <i>F8</i> gene defect known at first FVIII infusion	31 (23.7)	40 (29.2)	35 (27.6)	0.579
Family history — n. (%)				0.128
Hemophilia without inhibitor	47 (35.9)	57 (41.6)	38 (29.9)	
Hemophilia with inhibitor	7 (5.3)	13 (9.5)	15 (11.8)	
No family history of hemophilia	77 (58.8)	67 (48.9)	74 (58.3)	
Family history of hemophilia and inhibitor known at first FVIII infusion	3 (2.3)	9 (6.6)	6 (4.7)	0.243
Ethnic origin — n. (%) [†]				0.372
White only (both parents)	91 (69.5)	100 (73.0)	93 (73.2)	
Other, not African or Afro-American	27 (20.6)	25 (18.2)	29 (22.8)	
African or Afro-American (at least one grandparent)	13 (9.9)	12 (8.8)	5 (3.9)	
Calendar period of first exposure to FVIII — n. (%)				<0.001
2001-2003	21 (16.0)	0 (0.0)	34 (26.8)	
2004-2006	16 (12.2)	35 (25.5)	22 (17.3)	
2007-2009	37 (28.2)	36 (26.3)	35 (27.6)	
2010-2012	18 (13.7)	31 (22.6)	31 (24.4)	
2013-2016	39 (29.8)	35 (25.5)	5 (3.9)	
Age at first exposure to FVIII — n. (%)				0.063
Less than 6 months	44 (33.6)	39 (28.5)	26 (20.5)	
6-11 months	41 (31.3)	54 (39.4)	43 (33.9)	
At least 12 months	46 (35.1)	44 (32.1)	58 (45.7)	
Risk factors at first exposure (fixed risk factors)				
Peak treatment episode at first exposure — n. (%)				
At least 3 consecutive EDs	38 (29.0)	40 (29.2)	37 (29.1)	0.999
At least 5 consecutive EDs	26 (19.8)	20 (14.6)	22 (17.3)	0.523
At least 10 consecutive EDs	14 (10.7)	10 (7.3)	11 (8.7)	0.618
First exposure linked to surgical procedure (with at least 3 EDs) — n. (%)	7 (5.3)	6 (4.4)	2 (1.6)	0.259
First exposure linked to severe bleeding episode — n. (%)	11 (8.4)	14 (10.2)	15 (11.8)	0.661
Risk factors at any time (time-varying risk factors)				
History of peak treatment episodes (≥1 during follow-up) — n. (%)				
≥3 consecutive EDs	86 (65.6)	90 (65.7)	83 (65.4)	0.998
≥5 consecutive EDs	56 (42.7)	50 (36.5)	46 (36.2)	0.470
≥10 consecutive EDs	21 (16.0)	18 (13.1)	18 (14.2)	0.793
History of surgical procedures (with ≥3 EDs) during follow-up — n. (%)	21 (16.0)	19 (13.9)	12 (9.4)	0.282
History of severe bleeding episodes during follow-up — n. (%)	14 (10.7)	17 (12.4)	18 (14.2)	0.697
Initiation of regular prophylaxis [‡]				0.153§
N. (% according to Kaplan-Meier estimator) at 25 EDs	51 (65.4)	63 (74.1)	40 (60.6)	
N. (% according to Kaplan-Meier estimator) at 50 EDs	73 (93.6)	80 (94.1)	61 (92.4)	

*High-risk *F8* gene defects include large deletions (at least 1 exon), intron 1 and 22 inversions, small deletions/insertions with stop codon (out of A-run) and nonsense mutations. [†]Up to four ethnic origins per patient could be recorded (one for each grandparent). [‡]The initiation of regular prophylaxis was defined as the moment at which at least three consecutive prophylactic infusions of FVIII were given within a period of at least 15 days (RODIN definition). [§][‡]P for global test using Cox proportional hazards model with exposure day as the observational time unit. FVIII: factor VIII; ED: exposure day.

Tab. 3: Patientencharakteristika, Vergleich der 3 Behandlungsgruppen. Aus: (25)

Die kumulative Inzidenz für alle klinisch relevanten Inhibitoren war 35% (95%CI 30.2-40.3%), hoch-titrige Inhibitoren 21.3% (95%CI 17.2-26.2%), und behandelte Inhibitoren 30.5% (95%CI 25.9-35.7%). Es fanden sich signifikante Unterschiede in der Inhibitorinzidenz (alle Kategorien) zwischen den 3 FVIII Produkten: am niedrigsten bei Behandlung mit Factane (22.5% für alle Inhibitoren), höher mit Advate (31.6%), und am höchsten mit Kogenate FS (50.1%) (Abbildung 4). Bezogen auf Factane war das Inhibitorrisiko (alle Inhibitoren) für Advate um das 1.4-fache erhöht (hazard ratio, HR 1.41, 95%CI 0.83-2.38, adjustiert für alle anderen Risikofaktoren). Für Kogenate FS war Risiko gegenüber Factane um das 2.7-fache erhöht (adjusted HR 2.74, 95%CI 1.67-4.48). Diese Unterschiede waren für die drei Outcomekategorien und über verschiedene Subgruppenanalysen, propensity-score Matching, sowie Sensitivitätsanalysen weitgehend konstant.

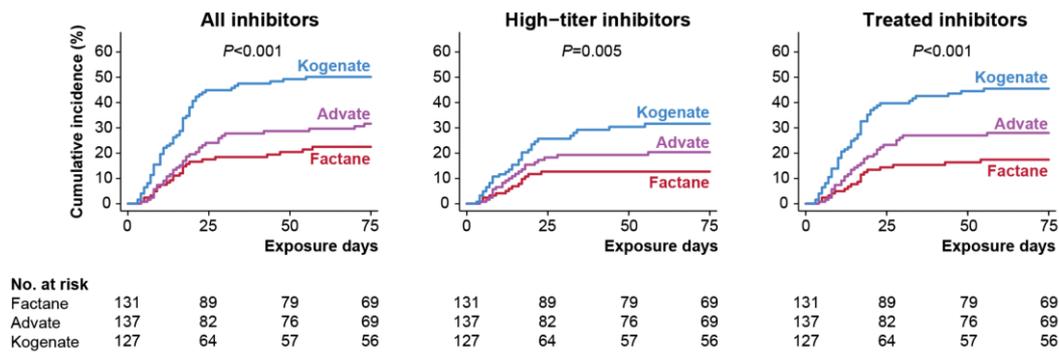


Abb. 4: Kumulative Inzidenz für alle, hoch-titrige, behandelte Inhibitoren innerhalb der ersten 75 ED; Vergleich zwischen pFVIII Produkt und zwei rFVIII Produkten. Aus: (25)

Bedeutung für die klinische Praxis

Die FrenchCoag PUP Studie zeigt, dass Unterschiede in der Immunogenizität nicht nur zwischen Produktgruppen (pFVIII versus rFVIII), sondern auch zwischen individuellen FVIII Produkten (Advate versus Kogenate FS) bestehen können. Damit bestätigt die FrenchCoag PUP Studie einerseits die Ergebnisse der SIPPET Studie, da der Unterschied zwischen dem pFVIII Produkt und den rFVIII Produkten größenordnungsmäßig ähnlich war. Andererseits unterstützt die FrenchCoag PUP Studie auch die Hinweise aus der RODIN Studie betreffend des höheren Inhibitorrisikos mit Kogenate FS gegenüber anderen rFVIII Produkten. Die plausibelste Erklärung für Unterschiede in der Immunogenizität von Produkten liegt in den Herstellungsverfahren, die zu unterschiedlichen Molekülstrukturen führen können. Die randomisierte SIPPET Studie, die das geringste Potential für Bias und Confounding hat, ergab in einer Subgruppenanalyse keinen Hinweis für eine unterschiedliche Immunogenizität von Kogenate FS, sodaß diese nicht als endgültig gesichert gelten kann. Kogenate FS ist aber inzwischen nicht mehr in Verwendung.

Für die Praxis ergeben sich aus den Ergebnissen der FrenchCoag PUP Studie und der anderen genannten Studien folgende Konsequenzen:

1. In dem Bemühen, alle beeinflussbaren exogenen Risikofaktoren für die Inhibitorentwicklung zu optimieren, muß auch die Wahl des FVIII Produktes berücksichtigt werden. Auf Basis der nun vorhandenen Evidenz sollten pFVIII Produkte für die Erstbehandlung von PUPs die Therapie der ersten Wahl darstellen.
2. Trotz der geringeren Immunogenizität von pFVIII Produkten in der frühen Behandlungsphase, haben viele neue rFVIII Produkte Vorteile in der praktischen Verwendung, wie zB. verlängerte Halbwertszeiten. Gerade solche Produkte haben aufgrund neuer Herstellungsprozessen und modifizierter Moleküle aber das Potential für eine veränderte Immunogenizität. Die Ergebnisse unterstreichen, dass für alle neuen FVIII Produkte die Immunogenizität bei PUPs unbedingt systematisch erfasst werden muß.

3. Inwieweit PUPs, die für die ersten 50-75 ED mit pFVIII behandelt werden, nach einem darauffolgenden Wechsel auf ein rFVIII Produkt ihre Immuntoleranz aufrechterhalten oder ein erhöhtes Inhibitorrisiko haben, ist derzeit unbekannt und soll in einer geplanten Folgestudie der SIPPET Studie geklärt werden.

Literatur

1. Peyvandi F, Garagiola I, Young G. The past and future of haemophilia: diagnosis, treatments, and its complications. *Lancet*. 2016; 388 (10040): 187-197.
2. Jayandharan GR, Srivastava A, Srivastava A. Role of molecular genetics in hemophilia: from diagnosis to therapy. *Semin Thromb Hemost*. 2012; 38 (1): 64-78.
3. Blanchette VS, Key NS, Ljung LR, Manco-Johnson MJ, van den Berg HM, Srivastava A. Definitions in hemophilia: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2014; 12 (11): 1935-1939.
4. Den Uijl IE, Mauser Bunschoten EP, Roosendaal G, Schutgens RE, Biesma DH, Grobbee DE, Fischer K. Clinical severity of haemophilia A: does the classification of the 1950s still stand? *Haemophilia*. 2011; 17 (6): 849-853.
5. Pavlova A, Oldenburg J. Defining severity of hemophilia: more than factor levels. *Semin Thromb Hemost*. 2013; 39 (7): 702-710.
6. van Dijk K, Fischer K, van der Bom JG, Grobbee DE, van den Berg HM. Variability in clinical phenotype of severe haemophilia: the role of the first joint bleed. *Haemophilia*. 2005; 11 (5): 438-443.
7. Valentino LA. Blood-induced joint disease: the pathophysiology of hemophilic arthropathy. *J Thromb Haemost*. 2010; 8 (9): 1895-1902.
8. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, Ludlam CA, Mahlangu JN, Mulder K, Poon MC, Street A. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia*. 2013; 19 (1): e1-47.
9. Pabinger I, Heisteringer M, Muntean W, Reitter-Pfoertner SE, Rosenlechner S, Schindl T, Schuster G, Streif W, Thom K, Male C. [Treatment of haemophilia in Austria]. *Wien Klin Wochenschr*. 2015; 127 Suppl 3: S115-130.
10. Collins PW, Chalmers E, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, Williams M, Hay CR. Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia: (4th edition). UK Haemophilia Centre Doctors Organization. *Br J Haematol*. 2013; 160 (2): 153-170.
11. Nilsson IM, Berntorp E, Lofqvist T, Pettersson H. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *J Intern Med*. 1992; 232 (1): 25-32.
12. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, Ingram JD, Manco-Johnson ML, Funk S, Jacobson L, Valentino LA, Hoots WK, Buchanan GR, DiMichele D, Recht M, Brown D, Leissinger C, Bleak S, Cohen A, Mathew P, Matsunaga A, Medeiros D, Nugent D, Thomas GA, Thompson AA, McRedmond K, Soucie JM, Austin H, Evatt BL. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med*. 2007; 357 (6): 535-544.
13. Berntorp E, Dolan G, Hay C, Linari S, Santagostino E, Tosetto A, Castaman G, Alvarez-Roman MT, Parra Lopez R, Oldenburg J, Albert T, Scholz U, Holmstrom M, Schved JF, Trossaert M, Hermans C, Boban A, Ludlam C, Lethagen S. European retrospective study of real-life haemophilia treatment. *Haemophilia*. 2017; 23 (1): 105-114.
14. Manco-Johnson MJ, Soucie JM, Gill JC. Prophylaxis usage, bleeding rates, and joint outcomes of hemophilia, 1999 to 2010: a surveillance project. *Blood*. 2017; 129 (17): 2368-2374.
15. Fischer K, Collins PW, Ozelo MC, Srivastava A, Young G, Blanchette VS. When and how to start prophylaxis in boys with severe hemophilia without inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2016; 14 (5): 1105-1109.
16. Ljung R, Fischer K, Carcao M, Santagostino E, Manco-Johnson MJ, Mathew P. Practical considerations in choosing a factor VIII prophylaxis regimen: Role of clinical phenotype and trough levels. *Thromb Haemost*. 2016; 115 (5): 913-920.
17. Valentino LA, Ewenstein B, Navickis RJ, Wilkes MM. Central venous access devices in haemophilia. *Haemophilia*. 2004; 10 (2): 134-146.

Hämophilie A und B – Christoph Male

18. Santagostino E, Gringeri A, Berardinelli L, Beretta C, Muca-Perja M, Mannucci PM. Long-term safety and feasibility of arteriovenous fistulae as vascular accesses in children with haemophilia: a prospective study. *Br J Haematol.* 2003; 123 (3): 502-506.
19. Thom KE, Holzenbein T, Jones N, Zwiauer K, Streif W, Gattringer S, Male C. Arteriovenous shunts as venous access in children with haemophilia. *Haemophilia.* 2018; 24 (3): 429-435.
20. Iorio A, Halimeh S, Holzhauser S, Goldenberg N, Marchesini E, Marcucci M, Young G, Bidlingmaier C, Brandao LR, Ettingshausen CE, Gringeri A, Kenet G, Knofler R, Kreuz W, Kurnik K, Manner D, Santagostino E, Mannucci PM, Nowak-Gottl U. Rate of inhibitor development in previously untreated hemophilia A patients treated with plasma-derived or recombinant factor VIII concentrates: a systematic review. *J Thromb Haemost.* 2010; 8 (6): 1256-1265.
21. Gouw SC, van der Bom JG, Ljung R, Escuriola C, Cid AR, Claeysens-Donadel S, van Geet C, Kenet G, Makiperna A, Molinari AC, Muntean W, Kobelt R, Rivard G, Santagostino E, Thomas A, van den Berg HM. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A. *N Engl J Med.* 2013; 368 (3): 231-239.
22. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, El-Beshlawy A, Elalfy M, Ramanan V, Eshghi P, Hanagavadi S, Varadarajan R, Karimi M, Manghani MV, Ross C, Young G, Seth T, Apte S, Nayak DM, Santagostino E, Mancuso ME, Sandoval Gonzalez AC, Mahlangu JN, Bonanad Boix S, Cerqueira M, Ewing NP, Male C, Owaidah T, Soto Arellano V, Kobrinsky NL, Majumdar S, Perez Garrido R, Sachdeva A, Simpson M, Thomas M, Zanon E, Antmen B, Kavakli K, Manco-Johnson MJ, Martinez M, Marzouka E, Mazzucconi MG, Neme D, Palomo Bravo A, Paredes Aguilera R, Prezotti A, Schmitt K, Wicklund BM, Zulfikar B, Rosendaal FR. A Randomized Trial of Factor VIII and Neutralizing Antibodies in Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2016; 374 (21): 2054-2064.
23. Manco-Johnson MJ, Lundin B, Funk S, Peterfy C, Raunig D, Werk M, Kempton CL, Reding MT, Goranov S, Gercheva L, Rusen L, Uscatescu V, Pierdominici M, Engelen S, Pocoski J, Walker D, Hong W. Effect of late prophylaxis in hemophilia on joint status: a randomized trial. *J Thromb Haemost.* 2017; 15 (11): 2115-2124.
24. Tagliaferri A, Feola G, Molinari AC, Santoro C, Rivolta GF, Cultrera DB, Gagliano F, Zanon E, Mancuso ME, Valdre L, Mameli L, Amoresano S, Mathew P, Coppola A. Benefits of prophylaxis versus on-demand treatment in adolescents and adults with severe haemophilia A: the POTTER study. *Thromb Haemost.* 2015; 114 (1): 35-45.
25. Calvez T, Chambost H, d'Oiron R, Dalibard V, Demiguel V, Doncarli A, Gruel Y, Huguenin Y, Lutz P, Rothschild C, Vinciguerra C, Goudemand J. Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *Haematologica.* 2018; 103 (1): 179-189.

Innovative Hämophilie-Therapien: Klinische Studien

Prof. Dr. Andreas Tiede

Klinik für Hämatologie, Hämostaseologie, Onkologie und Stammzelltransplantation

Medizinische Hochschule Hannover

E-Mail: tiede.andreas@mh-hannover.de

State of the Art: Modifizierte Faktorenkonzentrate	3
Highlight 1: Indirekter Vergleich zwischen HLE-FVIII und Standard-Faktor VIII	5
State of the Art: Alternative Hämophilietherapie (Non-Replacement Therapy)	8
Highlight 2: Emicizumab bei Patienten mit Hämophilie A ohne Hemmkörper (HAVEN-3-Studie)	11
State of the Art: Gentherapie.....	17
Highlight 3: Gentherapie der Hämophilie A mit dem adeno-assoziierten Vektor Valoctocogene Roxaparvovec (BMN 270).....	18
Literatur.....	22

State of the Art: Modifizierte Faktorenkonzentrate

Die angeborene Hämophilie wird in der klinischen Routine mit plasmatischen und rekombinant hergestellten Gerinnungsfaktoren behandelt. Die Behandlung erfolgt bei schwerer Hämophilie A und B (FVIII bzw. FIX <1% der Norm) in der Regel als prophylaktische Dauertherapie („Prophylaxe“); bei mittelschwerer (1-5%) und milder Hämophilie (>5%) erfolgt sie je nach klinischer Blutungshäufigkeit entweder prophylaktisch oder auch nur bei Bedarf im Fall von Blutungen („On-demand“).

Rekombinante Gerinnungsfaktoren wurden in den vergangenen Jahren weiterentwickelt, wobei vor allem ihre Halbwertszeit durch Kopplung an Polyethylenglykol (PEG) oder durch Herstellung von Fusionsproteinen verlängert wurde (Tabelle 1).

Mechanismus	Kürzel	Generischer Name (Handelsname)	Hersteller	Ref.
Faktor VIII				
Fc-Fusionsprotein	rFVIII-Fc	Efmoroctocog alfa (Elocta)	Bioverativ/SOBI	(1)
PEGylierung	BAX 855	Rurioctocog alfa pegol (Adynovy)	Baxalta (Shire, Takeda)	(2)
	BAY 94-9027	Damoctocog alfa pegol (Jivi)	Bayer	(3)
	N8-GP	Turoctocog alfa pegol*	Novo Nordisk	(4)
Single-Chain	CSL627	Lonoctocog alfa (Afstyla)	CSL Behring	(5)
Faktor IX				
PEGylierung	N9-GP	Nonacog beta pegol (Refixia)	Novo Nordisk	(6)
Fc-Fusionsprotein	rFIX-Fc	Eftrenonacog alfa (Alprolix)	Bioverativ/SOBI	(7)
Albumin-Fusionsprotein	FIX-FP	Albutrepenonacog alfa (Idelvion)	CSL Behring	(8)

Tab. 1: Modifizierte Faktor-VIII- und Faktor-IX-Konzentrate. Die Referenz verweist jeweils auf die Schlüsselpublikation des Zulassungsprogramms, meist die Phase-3-Studie bei Patienten ≥12 Jahren. Abkürzungen: Fc, konstantes Fragment des Immunglobulin G; PEG, Polyethylenglycol. *in EU nicht zugelassen (Stand 31.01.19).

Die modifizierten **FVIII-Produkte** haben eine ca. **1,5fach** verlängerte Halbwertszeit (18 h) im Vergleich zu herkömmlichem Faktor VIII (12 h) (9). Die modifizierten **FIX-Produkte** haben eine ca. **3-5fach** verlängerte Halbwertszeit (10-12). Die sich daraus ergebenden, in den klinischen Studien untersuchten Dosierungen und Dosierintervalle sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Mechanismus	Empfohlene Startdosierung	Empfohlene Anpassung
Faktor VIII		
Efmoroctocog alfa	50 IE/kg alle 3 bis 5 Tage	Je nach Ansprechen des Patienten im Bereich zwischen 25 und 65 IE/kg
Rurioctocog alfa pegol	40 bis 50 IE/kg zweimal wöchentlich im Abstand von 3 bis 4 Tagen	Nach erzieltm FVIII-Spiegel und der individuellen Blutungsneigung
Damoctocog alfa pegol	45-60 IE/kg alle 5 Tage	60 IE/kg alle 7 Tage oder 30-40 IE/kg zweimal wöchentlich
Lonoctocog alfa	20-50 IE/kg 2 bis 3 Mal wöchentlich	Je nach dem Ansprechen des Patienten
Faktor IX		
Nonacog beta pegol	40 IE/kg einmal wöchentlich	Basierend auf erzielten FIX-Spiegeln und individueller Blutungsneigung
Eftrenonacog alfa	50 IE/kg einmal wöchentlich oder	Dosis an das Ansprechen anpassen
	100 IE/kg einmal alle 10 Tage	Intervall an das Ansprechen anpassen (z.B. 14 Tage)
Albutreponacog alfa	35 bis 50 IE/kg einmal wöchentlich	Bis zu 75 IE/kg alle 10 oder 14 Tage

Tab. 2: Halbwertszeit-verlängerte Faktorenkonzentrate: Dosierung in der Prophylaxe von Erwachsenen gemäß Fachinformationen.

Halbwertszeit-verlängerter (HLE) FVIII und FIX sind in der EMA seit 2015 bzw. 2016 zugelassen. Zu dieser Zeit wurden auch erste Daten aus den Verlängerungsstudien der Zulassungsprogramme publiziert. Diese bestätigten, dass die zugelassenen Dosierungen und Dosierintervalle auch in der längerfristigen Anwendung eingehalten wurden und mit ähnlichen oder sogar niedrigeren Blutungsraten im Vergleich zu den Zulassungsstudien einhergingen. Exemplarisch seien die ASPIRE Studie für Efmoroctocog alfa (13) und die B-YOND Studie für Eftrenoacog alfa (14) genannt. Anwendungsbeobachtungen aus Deutschland wurden noch nicht publiziert, sind aber unterwegs.

Highlight 1: Indirekter Vergleich zwischen HLE-FVIII und Standard-Faktor VIII

Iorio A, Krishnan S, Myren KJ, Lethagen S, McCormick N, Yermakov S, Karner P. Indirect comparisons of efficacy and weekly factor consumption during continuous prophylaxis with recombinant factor VIII Fc fusion protein and conventional recombinant factor VIII products. *Haemophilia*. 2017; 23 (3): 408-416.

(15)

Hintergrund

In den Zulassungsstudien zur Prophylaxe der Hämophilie A ist kein randomisierter Vergleich zwischen HLE-FVIII und Standard-FVIII erfolgt. Demgemäß hat das IQWiG in Deutschland auch keinen Zusatznutzen erkannt (16). Iorio et al. verglichen hier nun die Verbrauchs- und Blutungsdaten aus dem Studienprogramm von Efmoroctocog alfa mit Daten zu Standard-FVIII aus der Literatur.

Methodik

Es erfolgte eine systematische Literaturrecherche von publizierten klinischen Studien und Anwendungsbeobachtungen bei Patienten mit moderater und schwerer Hämophilie A mit zugelassenen, rekombinanten FVIII-Produkten.

Wöchentlicher Faktorverbrauch und annualisierte Blutungsrate wurden zwischen den Studien mit Standard-FVIII und Efmoroctocog alfa (gem. Arm 1 der Zulassungsstudie 25-65 IU/kg alle 3-5 Tage) verglichen (1).

Ergebnisse

Tabelle 3 stellt die eingeschlossenen Studien einschließlich der Efmoroctocog alfa Zulassungsstudie dar.

Study	Product	Design	Number of subjects	Severity of included subjects (endogenous factor VIII, IU mL ⁻¹)	Duration (weeks)*
Mahlangu <i>et al.</i> [17] [†]	rFVIII Fc (<i>Eloctate</i> ®)	Open-label, partially randomized	165	<0.01	52
Tarantino <i>et al.</i> [23]	rFVIII (<i>Advate</i> ®)	Open-label prophylactic regimen and double-blind, randomized, crossover PK comparison	108	≤0.02	n/r
Shapiro [24]	rFVIII (<i>Advate</i> ®)	Open-label, nonrandomized continuation of Tarantino <i>et al.</i> study [23]	81	≤0.02	88
Valentino <i>et al.</i> [25]	rFVIII (<i>Advate</i> ®)	Open-label, randomized comparison of two prophylactic regimens and crossover comparison of on-demand vs. prophylactic regimens	73	≤0.02	78
Recht <i>et al.</i> [26]	rFVIII (<i>Xyntha</i> ®)	Randomized, double-blind, crossover PK comparison followed by open-label, nonrandomized, prophylaxis	94	≤0.02	34
Lentz <i>et al.</i> [27]	rFVIII (<i>Novoeight</i> ®)	Open-label, nonrandomized	150	≤0.01	24
Tiede <i>et al.</i> [28]	rFVIII (<i>Nuwiq</i> ®)	Open-label, single arm	32	≤0.01	24
Pollmann <i>et al.</i> [29]	rFVIII (<i>REFACTO</i> ®)	Open-label postmarketing surveillance study in Germany and Austria (ongoing)	153	≤0.02	110

*Study durations were up to indicated number of weeks; not all subjects were on study for same duration.

[†]Mahlangu *et al.* rFVIII Fc study supplemented with Data on File, Biogen [18].

Tab. 3: Eingeschlossene Studien.

Das Alter der Patienten in den Studien betrug 7 bis 65 Jahre. Die überwiegende Mehrheit der Patienten hatte eine schwere Hämophilie A. Tabelle 4 stellt die Prophylaxe-Regime und die beobachtete mittlere annualisierte Blutungsrate dar die zwischen 2,3 und 6,5 Blutungen pro Jahr lag.

Die Metaanalyse der Studien mit **Standard-FVIII** ergab eine durchschnittliche Blutungsrate von **4,86 Blutungen pro Jahr**.

Study (lead author)	Continuous prophylaxis regimen	Mean prophylaxis duration, weeks	ABR	
			Median	Mean ± SD*
Mahlangu <i>et al.</i> [17], individualized prophylaxis	1.4–2.4 times weekly, 25–65 IU kg ^{-1†}	34.2	1.6	2.9 ± 3.9
Tarantino <i>et al.</i> [23]	3–4 times weekly, 25–40 IU kg ^{-1‡,§,¶}	n/r	n/r	6.3 ± 6.9
Shapiro [24]	3–4 times weekly, 25–40 IU kg ^{-1‡,§,¶}	n/r	n/r	6.0 ± 6.7
Valentino <i>et al.</i> [25]	2.3 times weekly, 20–80 IU kg ^{-1‡,***}	51.7	2.0	4.3 ± 5.1 ^{††}
	3.5 times weekly, 20–40 IU kg ^{-1‡,§,‡‡}	49.1	1.0	3.3 ± 5.8 ^{††}
Recht <i>et al.</i> [26]	3 times weekly, 30–45 IU kg ^{-1‡,§§}	24.6	1.9	3.9 ± 6.5
Lentz <i>et al.</i> [27]	3–4 times weekly, 20–50 IU kg ^{-1¶¶}	24	3.7	6.5 ± 8.3*
Tiede <i>et al.</i> [28]	3–4 times weekly, 30–40 IU kg ^{-1***}	n/r	0.9	2.3 ± 3.7
Pollmann <i>et al.</i> [29]	Postmarketing surveillance study; prophylactic regimen defined as ≥2 prophylactic administrations per week for ≥70% of weeks documented during a year***	n/r	4.4	6.4 ± 7.1

Tab. 4: Prophylaxe-Regime und annualisierte Blutungsraten.

Tabelle 5 vergleicht die annualisierten Blutungsraten von Standard-FVIII und HLE-FVIII, wobei eine negative Differenz eine niedrigere Blutungsrate unter Efmoroctocog alfa anzeigt. Dies war für 4 der 8 Studien sowie für die gepoolten Daten der Studien mit Standard-FVIII der Fall.

rFVIII comparator	rFVIII Fc individualized prophylaxis	
	Difference in ABR (rFVIII Fc – rFVIII)*	P-value†
<i>Primary analysis</i>		
Individual rFVIII studies		
Tarantino <i>et al.</i> [23]	-3.39	<0.001
Shapiro [24]	-3.09	0.002
Valentino <i>et al.</i>	-1.38	0.149
2.3× weekly [25]		
Valentino <i>et al.</i>	-0.36	0.740
3.5× weekly [25]		
Recht <i>et al.</i> [26]	-0.99	0.195
Lentz <i>et al.</i> [27]	-3.59	<0.001
Tiede <i>et al.</i> [28]	0.61	0.416
Pollmann <i>et al.</i> [29]	-3.49	<0.001
All rFVIII studies pooled (I ² = 79.5%, P < 0.001)‡	-1.95	0.007
<i>Sensitivity analysis</i>		
All rFVIII studies pooled, fixed effects model	-1.87	<0.001

*Negative value indicates rFVIII Fc results in fewer bleeding episodes.

†Student's *t*-test used for comparisons of individual studies; *z*-test used for comparison of pooled estimate.

‡Based on meta-analysis with random effects.

Tab. 5: Vergleich der annualisierten Blutungsrate zwischen Studien mit Standard-FVIII und Efmoroctocog alfa.

Tabelle 6 vergleicht die wöchentliche FVIII-Dosis, soweit für die Studien verfügbar, wobei eine positive Differenz einen nominell höheren Verbrauch an Standard-FVIII anzeigt. Dies war für 6 von 7 Studien mit verfügbaren Daten der Fall (mit Eftrenonacog alfa **16 bis 38% niedrigere Wochendosis**). In 1 von 7 Studien lag der Verbrauch an Standard-FVIII niedriger (17%).

rFVIII comparator	Number of prophylaxis subjects N	rFVIII Fc individualized prophylaxis*		
		Difference in weekly factor consumption (rFVIII – rFVIII Fc) [†]		
		IU kg ⁻¹	% [‡]	P-value
Tarantino <i>et al.</i> [23]	107	29.6 [§]	38%	n/a
Shapiro [24]	54	n/r	n/r	n/a
Valentino <i>et al.</i> 2.3× weekly [25]	34	18.9 [¶]	23%	n/a
Valentino <i>et al.</i> 3.5× weekly [25]	32	29.8 [¶]	37%	n/a
Recht <i>et al.</i> [26]	94	12.7 [§]	16%	n/a
Lentz <i>et al.</i> [27]	150	-14.3 ^{**}	-17%	<0.001
Tiede <i>et al.</i> [28]	32	21.8 ^{**}	26%	<0.001
Pollmann <i>et al.</i> [29]	81	15.5 [¶]	18%	0.137

Tab. 6: Vergleich der wöchentlichen FVIII-Dosis. P Werte wurden nur für Studien ermittelt, die einen Mittelwert des Verbrauchs berichteten (Lentz *et al.*, Tiede *et al.*), nicht für Studien, die nur den Median des Verbrauchs berichteten.

Bedeutung für die klinische Praxis

In Ermangelung randomisierter Prophylaxe-Studien vergleicht diese Arbeit wöchentlichen Faktorenverbrauch und Blutungsraten von Zulassungsstudien mit Standard-FVIII und einem HLE-FVIII, Efmoroctocog alfa. Es zeigt sich, dass mit Efmoroctocog alfa in den meisten Studien der Verbrauch 16-38% niedriger und die jährliche Blutungsrate im Durchschnitt um 2 Blutungen pro Jahr (2,9 vs. 4,8) niedriger liegt als mit Standard-FVIII.

State of the Art: Alternative Hämophilietherapie (Non-Replacement Therapy)

Die Substitutionstherapie mit Faktor VIII und IX hat mehrere **Nachteile**, die die klinische Versorgung der Patienten nachhaltig beeinflussen:

- Häufige intravenöse Injektion
 - Die Halbwertszeit von Standard-Faktor VIII (ca. 12 h) bzw. Halbwertszeit-verlängertem Faktor VIII (ca. 18 h) verlangt eine mehrmals wöchentliche Gabe
 - Die Halbwertszeit von Standard-Faktor IX (ca. 18-24 h) bzw. Halbwertszeit-verlängertem Faktor IX (ca. 50-100 h) ist zwar deutlich länger, aber meist sind dennoch mindestens wöchentliche Gaben erforderlich.
- Bildung von Hemmkörpern
 - 30-50% der Patienten mit schwerer Hämophilie A
 - 3-10% der Patienten mit schwerer Hämophilie B

Vor allem **Patienten mit Hemmkörpern** gegen Faktor VIII oder IX leiden unter einer hohen Morbidität und entwickeln häufig schwere Gelenkschäden, da die Therapie mit Faktor VIII und IX nicht oder nicht ausreichend klinisch wirksam ist (17). Therapeutisch standen für diese Patienten bislang zur Verfügung:

- **Immuntoleranztherapie** mit hohen Dosen Faktor VIII, die im Mittel nach 6 Monaten bei ca. 60% der Patienten zu immunologischer Toleranz führt,
- **Immuntoleranztherapie in Kombination mit Immunsuppression**, die vor allem bei Hämophilie B, aber in der Zweitlinie gelegentlich auch bei Hämophilie A durchgeführt wird,
- **Bypass-Produkte**, rekombinanter Faktor VIIa (rFVIIa) oder aktiviertes Prothrombinkomplex-Konzentrat (APCC), die bei prophylaktischer Anwendung die jährliche Blutungsrate um ca. 50% senken können, jedoch aufgrund ihrer besonders kurzen Wirkdauer sehr aufwändig sind.

Übersicht und Pharmakologie

Als Non-Replacement Therapie (NRT) werden zielgerichtete Eingriffe in das Gerinnungssystem bezeichnet, die einen Mangel an Gerinnungsfaktoren ausgleichen, ohne diesen unmittelbar zu substituieren. Zwei Strategien werden derzeit verwendet (Abb. 1):

- **Mimetika:** ein bispezifischen Antikörper gegen Faktor IX(a) und Faktor X(A) ersetzt den fehlenden Faktor VIIIa bei Hämophilie A:
 - Emicizumab
- **Inhibitoren:** monoklonale Antikörper bzw. eine inhibitorische siRNA werden eingesetzt, um das Fehlen von Faktor VIII bzw. IX bei Hämophilie A oder B durch Inhibition der natürlichen Antikoagulanzen in ein neues Gleichgewicht zu bringen:
 - Anti-TFPI-Antikörper: Concizumab, BAY 1093884, PF-06741086
 - siRNA gegen Antithrombin: Fitusiran

Gemeinsam haben alle NRT, dass es sich um subkutan applizierbare Substanzen mit relativ langer Wirkdauer handelt (Tabelle 7). Sie wirken sowohl bei Patienten mit und ohne Hemmkörper.

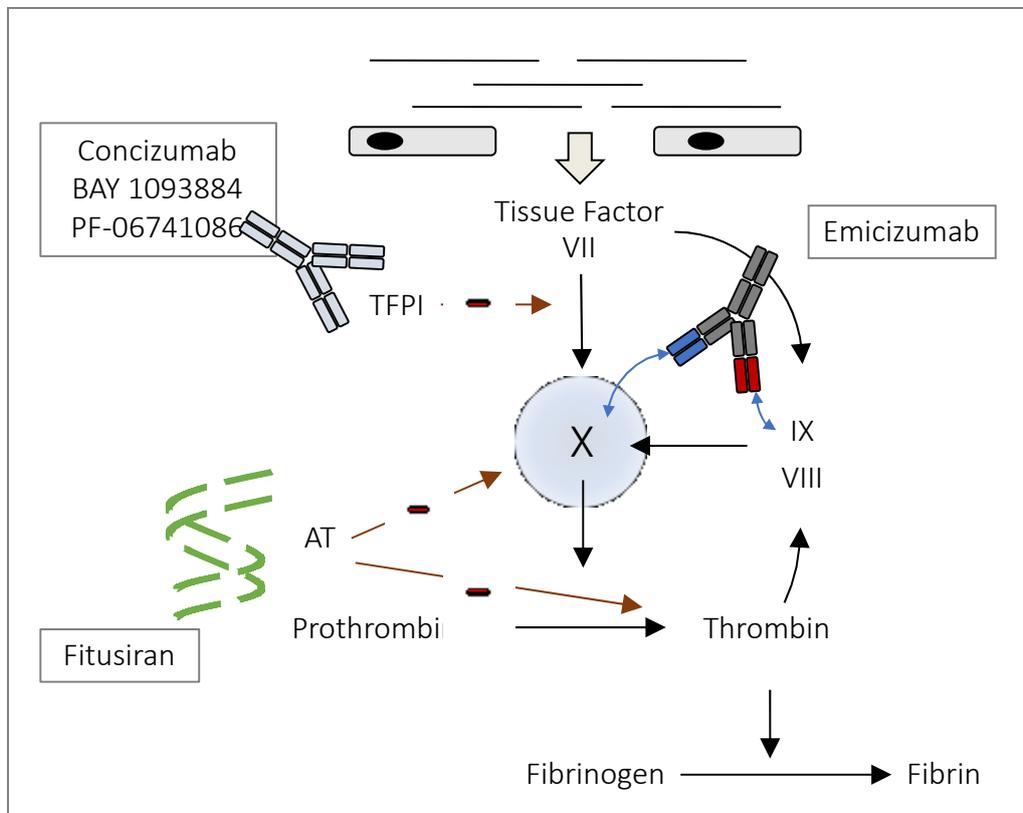


Abb. 1: Angriffspunkte der Non-Replacement Therapie (NRT) bei Hämophilie. Die Antikörper Concizumab, BAY 1093884 und PF-06741086, die gegen den *Tissue Factor Pathway Inhibitor* (TFPI) gerichtet sind, verhindern, dass TFPI die Aktivierung von Faktor X durch Tissue Factor und Faktor VIIa terminieren kann. Fitusiran blockiert die Biosynthese von Antithrombin (AT) in Hepatozyten. Emicizumab ersetzt Faktor VIIIa, indem es als bispezifischer Antikörper Faktor IX(a) und Faktor X zusammenführt. Eigene Darstellung des Autors.

	Emicizumab	Fitusiran	Concizumab BAY 1093884 PF-06741086
Indikation	HA	HA and HB	HA and HB
Wirkmechanismus	Bispezifischer Antikörper gegen FIX(a) and FX	siRNA zur Suppression der Antithrombin-Synthese	Anti-TFPI mAb
Zugangsweg	SC	SC	SC
Halbwertszeit	30 Tage	Kurze Plasma-t½, lange Wirkung in Zielzellen (Wochen)	Abhängig von der Sättigung des Ziels (Tage)
Entwicklungsstand	Zugelassen (FDA, EMA)	Phase 3	Phase 2/3

Tab. 7: Alternative Hämophilietherapie: Basisinformationen. HA, Hämophilie A. HB, Hämophilie B. siRNA, *small-interfering ribonucleic acid*. mAb, *monoclonal antibody*. SC, subkutan.

Emicizumab

Zugelassen ist als erster Vertreter der NRT Emicizumab, das im Rahmen des HAVEN-Studienprogramms untersucht wurde:

- HAVEN 1: Wöchentliche Prophylaxe mit Emicizumab bei Patienten ≥ 12 Jahre mit Hämophilie A und Hemmkörper (18, 19)
- HAVEN 2: Wöchentliche Prophylaxe mit Emicizumab bei Kindern ≤ 12 Jahre mit Hämophilie A und Hemmkörper (20)
- HAVEN 3: Wöchentliche oder zweiwöchentliche Prophylaxe mit Emicizumab bei Patienten ≥ 12 Jahre mit Hämophilie A ohne Hemmkörper (21)
- HAVEN 4: Vierwöchentliche Prophylaxe mit Emicizumab bei Patienten mit oder ohne Hemmkörper

Die **HAVEN-1-Studie** zeigt im direkten Vergleich, dass bei Patienten ≥ 12 J. mit Hemmkörper eine Prophylaxe mit Emicizumab mit ca. 87% weniger (behandelten) Blutungen einhergeht als eine Bedarfstherapie (on-demand) mit Bypassprodukten. Ferner zeigt die Studie im historischen Vergleich, dass die Blutungsrate bei Patienten, die von einer Bypass-Prophylaxe auf Emicizumab umgestellt wurden, ebenfalls sinkt.

Die **HAVEN-2-Studie** bei Kindern zwischen 2 und 12 Jahren mit Hemmkörper war einarmig angelegt und zeigte in einer Zwischenanalyse bei 23 Patienten, für die 12 oder mehr Behandlungswochen analysiert waren, eine annualisierte Blutungsrate von 0,2. Bei 8 der 23 Patienten war aus einer vorherigen nicht-interventionellen Studie (NIS) die historische Blutungsrate unter Bypass-Produkten bekannt. Die Blutungsrate unter Emicizumab lag 99% niedriger als unter der vorherigen Therapie.

Die kürzlich voll publizierte **HAVEN-3-Studie** wird im Folgenden berichtet.

Highlight 2: Emicizumab bei Patienten mit Hämophilie A ohne Hemmkörper (HAVEN-3-Studie)

Mahlangu J, Oldenburg J, Paz-Priel I, Negrier C, Niggli M, Mancuso ME, Schmitt C, Jimenez-Yuste V, Kempton C, Dhalluin C, Callaghan MU, Bujan W, Shima M, Adamkewicz JI, Asikanius E, Levy GG, Kruse-Jarres R. Emicizumab Prophylaxis in Patients Who Have Hemophilia A without Inhibitors. N Engl J Med. 2018; 379 (9): 811-822

(21)

Hintergrund

Dies ist die erste Phase-3-Studie zur Wirksamkeit und Sicherheit von Emicizumab bei Patienten mit Hämophilie A ohne Hemmkörper gegen Faktor VIII. Zuvor waren Daten zweier Studien zu Patienten mit Hemmkörpern publiziert worden (HAVEN-1- und HAVEN-2-Studie).

Methodik

Patienten mit schwerer Hämophilie A ab einem Alter von 12 Jahren, die zuvor mit einer Bedarfstherapie mit Faktor VIII behandelt worden waren, wurden 2:2:1 randomisiert:

- **Arm A:** Emicizumab Aufdosierung 3,0 mg/kg wöchentlich für 4 Wochen, dann **1,5 mg/kg wöchentlich** subkutan (n=36)
- **Arm B:** Emicizumab Aufdosierung 3,0 mg/kg wöchentlich für 4 Wochen, dann **3,0 mg/kg Emicizumab alle 2 Wochen** (n=35)
- **Arm C:** keine Prophylaxe, sondern **Bedarfsbehandlung mit FVIII** (n=18).

Eine weitere Gruppe von Patienten, die zuvor eine Prophylaxe mit Faktor VIII erhalten hatten, wurden auf eine Prophylaxe mit Emicizumab 1,5 mg/kg wöchentlich umgestellt (Arm D, n=63, davon zuvor in NIS beobachtet n=48). Der primäre Endpunkt war die jährliche Rate behandelter Blutungen.

Ergebnisse

Abb. 2 zeigt die Patientendisposition in der Studie.

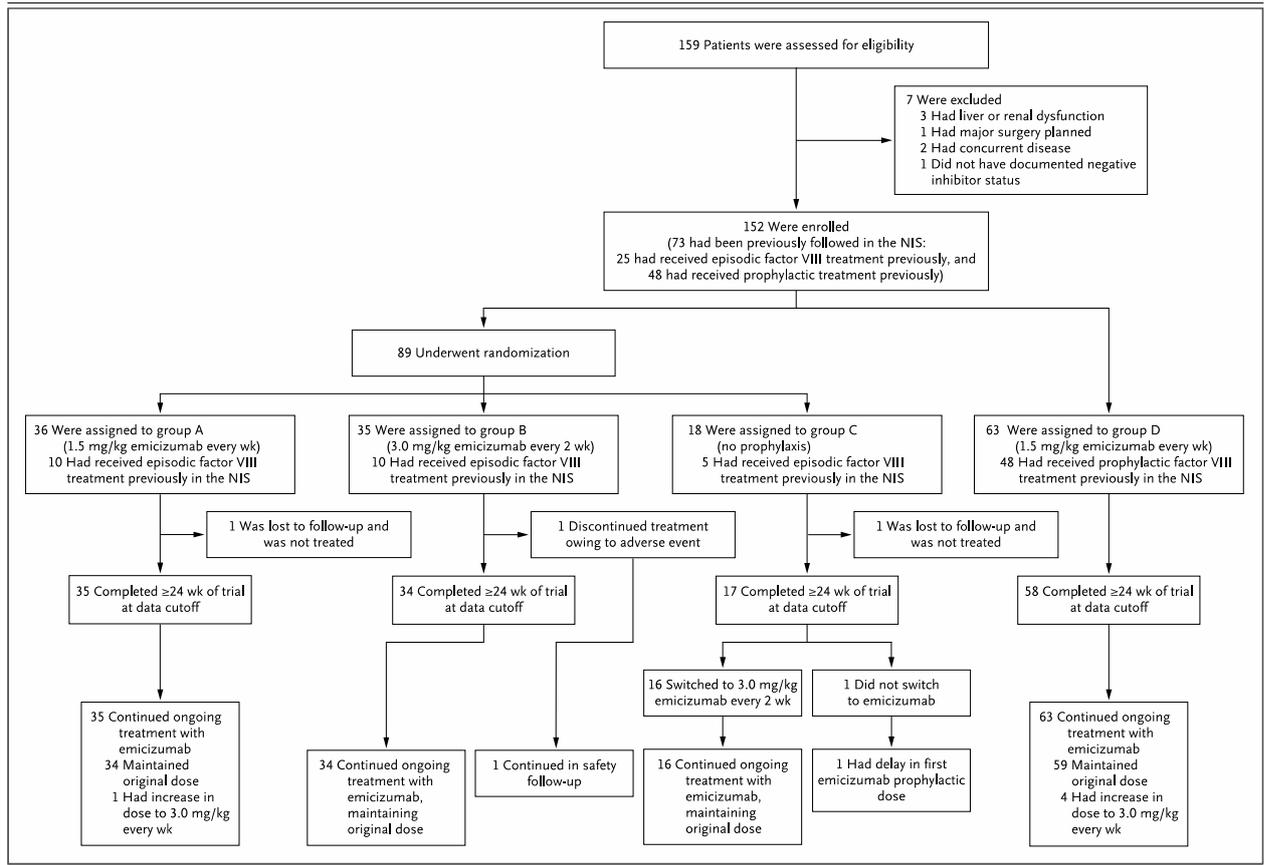


Abb. 2: Patientendisposition in der HAVEN-3-Studie. Aus: Mahlangu et al. N Engl J Med 2018; 379: 811-822 (21).

Tabelle 8 zeigt die **Ergebnisse** zu annualisierten Blutungsraten der randomisierten Patienten.

Die jährliche Rate *behandelter* Blutungen betrug mit Emicizumab 1,5 (Arm A) bzw. 1,3 (Arm B) und lag damit ca. 95% niedriger als bei Patienten ohne Prophylaxe (38,2; Arm C).

Die Zahl der Blutungen insgesamt, also einschließlich *unbehandelter* Blutungen, lag in den Armen A (2,5) und B (2,6) etwa doppelt so hoch. Unbehandelte Blutungen wurden in klinischen Studien mit Faktor-VIII-Produkten nicht thematisiert, jedoch ist anzunehmen, dass es früher schon unbehandelte Blutungen gab. Dennoch erscheint wichtig, dass Patienten unter Emicizumab neu geschult werden, dass nicht jede Blutung unbedingt behandlungspflichtig ist.

Variable	Group A: Emicizumab Once Weekly (N=36)	Group B: Emicizumab Every 2 Wk (N=35)	Group C: No Prophylaxis (N=18)
Median duration of efficacy period (range) — wk†	29.6 (17.3–49.6)	31.3 (7.3–50.6)	24.0 (14.4–25.0)
Bleeding events treated with factor VIII‡			
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI)§	1.5 (0.9–2.5)	1.3 (0.8–2.3)	38.2 (22.9–63.8)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.04 (0.02–0.08)	0.03 (0.02–0.07)	—
Percent difference vs. control	–96	–97	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.0 (0.0–2.5)	0.0 (0.0–1.9)	40.4 (25.3–56.7)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	56 (38–72)	60 (42–76)	0 (0–18)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	92 (78–98)	94 (81–99)	6 (<1–27)
All bleeding events, regardless of treatment with factor VIII			
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI)§	2.5 (1.6–3.9)	2.6 (1.6–4.3)	47.6 (28.5–79.6)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.05 (0.03–0.10)	0.06 (0.03–0.10)	—
Percent difference vs. control	–95	–94	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.6 (0.0–3.9)	1.6 (0.0–4.0)	46.9 (26.1–73.9)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	50 (33–67)	40 (24–58)	0 (0–18)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	86 (70–95)	86 (70–95)	6 (<1–27)
Treated events of spontaneous bleeding			
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI)§	1.0 (0.5–1.9)	0.3 (0.1–0.8)	15.6 (7.6–31.9)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.06 (0.03–0.15)	0.02 (0.01–0.06)	—
Percent difference vs. control	–94	–98	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.0 (0.0–1.3)	0.0 (0.0–0.0)	10.8 (2.1–25.9)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	67 (49–81)	89 (73–97)	22 (6–48)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	94 (81–99)	100 (90–100)	39 (17–64)
Treated events of joint bleeding			
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI)§	1.1 (0.6–1.9)	0.9 (0.4–1.7)	26.5 (14.7–47.8)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.04 (0.02–0.09)	0.03 (0.02–0.07)	—
Percent difference vs. control	–96	–97	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.0 (0.0–1.9)	0.0 (0.0–1.3)	21.3 (14.5–41.3)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	58 (41–74)	74 (57–88)	0 (0–18)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	94 (81–99)	97 (85–100)	17 (4–41)
Treated events of target-joint bleeding¶			
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI)§	0.6 (0.3–1.4)	0.7 (0.3–1.6)	13.0 (5.2–32.3)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.05 (0.02–0.14)	0.05 (0.02–0.15)	—
Percent difference vs. control	–95	–95	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.0 (0.0–1.4)	0.0 (0.0–0.0)	12.8 (0.0–39.1)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	69 (52–84)	77 (60–90)	28 (10–54)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	97 (86–100)	97 (85–100)	39 (17–64)

* Participants in groups A, B, and C had received episodic treatment with factor VIII previously. IQR denotes interquartile range.

† The start of the efficacy period for each participant was the first day with available data. The end of the efficacy period in groups A and B was the day of clinical cutoff or treatment discontinuation. The end of the efficacy period in group C was the day before the first dose of emicizumab or the day of discontinuation.

‡ The primary analysis occurred after the last randomly assigned participant and at least 40 participants from group D had completed 24 weeks in the trial or had withdrawn. Three participants who withdrew had a follow-up duration that was shorter than 24 weeks.

§ The annualized bleeding rate was calculated with the use of a negative binomial-regression model.

¶ Target joints were defined as major joints (e.g., hip, elbow, wrist, shoulder, knee, and ankle) in which at least three bleeding events occurred over the 24-week period before trial entry.

|| P<0.001 for the comparison with group C.

Tab. 8: Annualisierte Blutungsraten der randomisierten Patienten (Arm A bis C) in der HAVEN-3-Studie. Aus: Mahlangu et al. N Engl J Med 2018; 379: 811-822 (21).

Tabelle 9 zeigt die annualisierte Blutungsrate von Patienten, die zuvor mit einer FVIII-Prophylaxe behandelt und in der NIS beobachtet wurden (4,8 Blutungen pro Jahr), im Vergleich zu ihrer Blutungsrate unter Emicizumab (1,5 Blutungen pro Jahr).

Variable	Group D in Current Trial: Emicizumab Prophylaxis (N=48)	Noninterventional Study: Factor VIII Prophylaxis (N=48)
Median duration of efficacy period (range) — wk [†]	33.7 (20.1–48.6)	30.1 (5.0–45.1)
Annualized rate of bleeding events, model-based (95% CI) [‡]	1.5 (1.0–2.3)	4.8 (3.2–7.1)
Rate ratio vs. control (95% CI)	0.32 (0.20–0.51)	—
Percent difference vs. control	–68 [§]	—
Median annualized rate of bleeding events (IQR)	0.0 (0.0–2.1)	1.8 (0.0–7.6)
Percent of participants with 0 bleeding events (95% CI)	54 (39–69)	40 (26–55)
Percent of participants with 0–3 bleeding events (95% CI)	92 (80–98)	73 (58–85)

* Data are shown for 48 participants in group D who had participated in an earlier noninterventional study of factor VIII prophylaxis. In group D, these participants received emicizumab at a once-weekly dose of 1.5 mg per kilogram.

[†] The efficacy period for the noninterventional study group was defined as the time between the day of handheld-device activation and either the date of study withdrawal or completion, whichever occurred first.

[‡] The annualized bleeding rate was calculated with the use of a negative binomial-regression model.

[§] P<0.001 for the comparison with the noninterventional study.

Tab. 9: Patienten, die von einer FVIII-Prophylaxe auf Emicizumab umgestellt wurden (Arm D). Aus: Mahlangu et al. N Engl J Med 2018; 379: 811–822 (21).

Die mit dem Haem-A-QoL Fragebogen erhobenen Scores zur **Lebensqualität** lagen in Woche 25 der Behandlung in Arm A 12 und in Arm B 16 Punkte besser als in Arm C. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant.

Die Daten zu **Sicherheit** und Nebenwirkungen sind in Tabelle 10 wiedergegeben. Es kam in dieser Studie nicht zu thromboembolischen Ereignissen, wie sie in der HAVEN-1-Studie unter Begleit-Medikation mit aktiviertem Prothrombinkomplex-Konzentrat (APCC) beobachtet worden waren.

Abb. 3 zeigt, dass **Plasmaspiegel** von Emicizumab unter wöchentlicher (1,5 mg/kg) und zweiwöchentlicher (3,0 mg/kg) Therapie ähnlich waren.

Variable	Group A: Emicizumab Once Weekly (N=36)	Group B: Emicizumab Every 2 Wk (N=35)	Group C: Emicizumab Every 2 Wk (N=16)*	Group D: Emicizumab Once Weekly (N=63)	Total (N=150)
Median duration of exposure period (range) — wk	29.3 (17.3–49.1)	30.1 (6.1–50.1)	7.1 (0.1–26.1)	33.1 (18.0–48.1)	29.0 (0.1–50.1)
No. of adverse events	143	145	19	236	543
Most common adverse events — no. of participants (%)†					
Injection-site reaction‡	9 (25)	7 (20)	2 (12)	20 (32)	38 (25)
Upper respiratory tract infection	4 (11)	4 (11)	0	8 (13)	16 (11)
Nasopharyngitis	2 (6)	6 (17)	0	10 (16)	18 (12)
Arthralgia	7 (19)	6 (17)	1 (6)	14 (22)	28 (19)
Headache	3 (8)	4 (11)	1 (6)	8 (13)	16 (11)
Influenza	1 (3)	3 (9)	0	5 (8)	9 (6)
No. of serious adverse events§	1	3	0	10	14
Adverse event leading to discontinuation of treatment — no. of participants (%)	0	1 (3)¶	0	0	1 (1)

* Data are for the period of emicizumab prophylaxis only. At the clinical cutoff date, one participant was lost to follow-up and another was waiting to start emicizumab therapy.

† Shown are events that occurred in at least 5% of all the participants who received emicizumab prophylaxis.

‡ The injection-site events were of grade 1 or 2.

§ Serious adverse events included a bleeding event (in four participants), cardiac disorder (in one), infection (in three), musculoskeletal disorder (in three), loosening of an orthopedic device (in one), psychiatric disorder (in one), and trauma (in one). An event of nephrolithiasis occurred in one participant after the dose was increased to 3 mg per kilogram per week. None of these events were considered by the investigator to be related to emicizumab treatment.

¶ One participant in group B discontinued treatment because of multiple low-grade adverse events (insomnia [grade 2], alopecia [grade 1], nightmare [grade 2], lethargy [grade 2], pruritus [grade 1], headache [grade 1], and depressed mood [grade 1]) that were considered by the investigator to be related to emicizumab.

Tab. 10: Nebenwirkungen unter Therapie mit Emicizumab. Aus: Mahlangu et al. N Engl J Med 2018; 379: 811-822 (21).

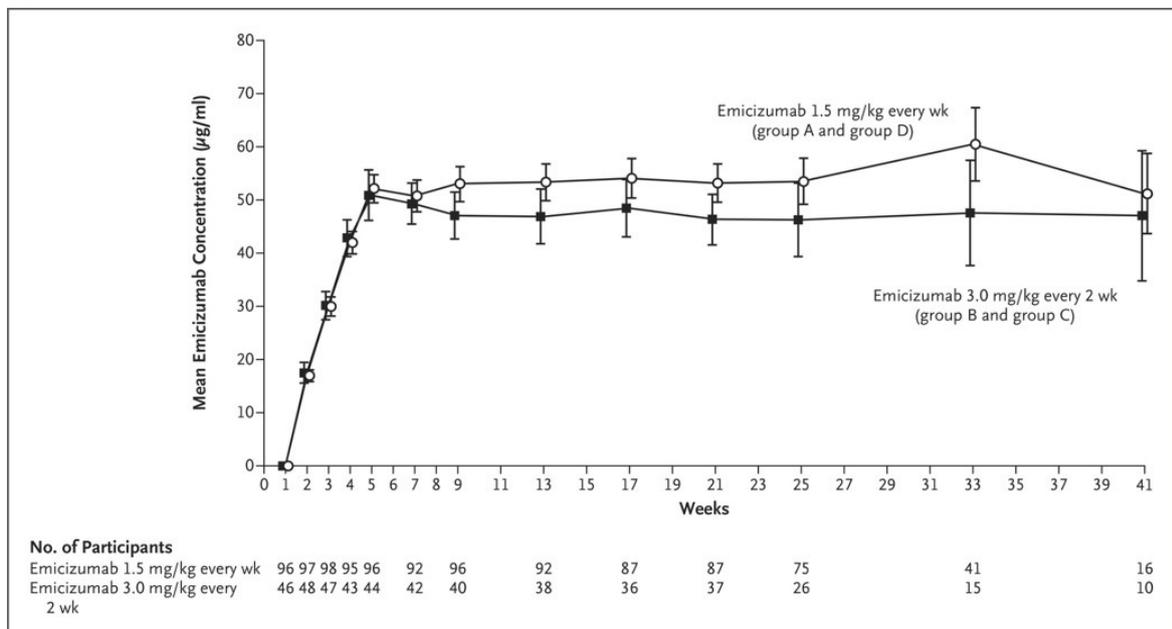


Abb. 3: Emicizumab Plasmaspiegel unter wöchentlicher Gabe (entspr. Arm A) oder zweiwöchentlicher Gabe (entspr. Arm B). Aus: Mahlangu et al. N Engl J Med 2018; 379: 811-822 (21).

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Studie belegt die Wirksamkeit einer Prophylaxe mit Emicizumab bei Patienten mit schwerer Hämophilie, die keine Inhibitoren gegen Faktor VIII haben. Mit beiden Dosierregimen wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. Damit ist Emicizumab eine Alternative zur Prophylaxe mit Faktor VIII bei schwerer Hämophilie A.

Ob Emicizumab einer Prophylaxe mit Faktor VIII überlegen ist, kann anhand der Studie nicht sicher gesagt werden. Im intraindividuellen Vergleich von Patienten, die von einer Faktor-VIII-Prophylaxe auf Emicizumab umgestellt wurden, wurde eine Abnahme der Blutungsrate beobachtet. Dieser historische Vergleich könnte aber verzerrt sein.

Emicizumab wird insbesondere für Patienten mit schwierigem Venenzugang eine gute Alternative zur Prophylaxe mit Faktor VIII sein. Dazu gehören insbesondere Neugeborene, Säuglinge und Kleinkinder mit Hämophilie A, bei denen es bislang aber wenig Erfahrung mit Emicizumab gibt.

Wenig Erfahrungen bestehen ferner zu den folgenden Aspekten:

- Optimale Blutungsbehandlung (Wann behandeln? Wie intensiv? Wie lange?)
- Vorgehen bei chirurgischen Eingriffen
- Immuntoleranz gegenüber Faktor VIII, wenn Patienten mit Hämophilie A diesen nur noch sehr selten bekommen, insbesondere bei Patienten, die zuvor unbehandelt waren
- Plasmaspiegel-Monitoring (Methodik, Aussagekraft)

State of the Art: Gentherapie

Rationale

Eine Gentherapie der Hämophilie A oder B ermöglicht potenziell die dauerhafte Expression prophylaktisch und/oder therapeutisch wirksamer Spiegel von Faktor VIII oder IX nach einer einzigen Behandlung.

Die Hämophilie wird als besonders geeignet für die Gentherapie angesehen, weil die Molekulargenetik der Erkrankung vergleichsweise einfach und gut untersucht ist.

Ferner bestehen relativ geringe Ansprüche an eine Regulation von Faktor VIII und IX: auch geringe Spiegel hätten vermutlich bereits einen Effekt in der Prophylaxe, während auch höhere oder gar supraphysiologische Spiegel (im Vergleich zu Genprodukten bei anderen Erkrankungen) wenig toxisch wären (22).

Aktive Studien

Derzeit sind jeweils etwa 10 Studien bei Hämophilie A und Hämophilie B aktiv. Tabelle 11 listet die Studien, die derzeit rekrutieren (Stand Januar 2019).

Vektor	Beschreibung	Phase	Sponsor/Collaborator	NCT
Hämophilie A				
Valoctocogene Roxaparvovec BMN 270	AAV5-HLP-co-BDD-F8	3	BioMarin	NCT03392974 NCT03370913 NCT03520712
BAY2599023 (DTX201)		1/2	Bayer / Ultragenyx	NCT03588299
SPK-8011	AAV(LK03)-co-BDD-F8	1/2	Spark	NCT03003533
BAX 888	AAV8-TTR-co-BDD-F8	1/2	Baxalta (Shire, nun Takeda)	NCT03370172
SB-525	AAV6-co-BDD-F8	1/2	Sangamo	NCT03061201
AAV2/8-HLP-FVIII-V3 (GO-8)	AAV2/8-HLP-FVIII-V3	1/2	University College, London	NCT03001830
Hämophilie A mit Hemmkörper				
SPK-8016		1/2	Spark	NCT03734588
Hämophilie B				
AMT-061	AAV5-co-F9-Padua	3	UniQure	NCT03569891
SPK-9001	Modifiziertes AAV8-co-F9-Padua	2	Pfizer / Spark	NCT03307980
SB-FIX (Zinc Finger Nuclease)	AAV6-Zinkfinger-Albumin-Lokus	1	Sangamo	NCT02695160
FLT180a	Modifizierter AAV	1	University College, London	NCT03369444

Tab. 11: Ausgewählte, aktiv rekrutierende Gentherapiestudien mit AAV-Vektoren. AAV, adenoassoziiertes Virus. HLP, humaner leberspezifischer Promoter. co, codon-optimiert. BDD, B-Domain-deletiert.

Highlight 3: Gentherapie der Hämophilie A mit dem adeno-assoziierten Vektor Valoctocogene Roxaparvovec (BMN 270)

Rangarajan S, Walsh L, Lester W, Perry D, Madan B, Laffan M, Yu H, Vettermann C, Pierce GF, Wong WY, Pasi KJ. AAV5-Factor VIII Gene Transfer in Severe Hemophilia A. *N Engl J Med.* 2017; 377 (26): 2519-2530.

(23)

Hintergrund

BMN 270 ist ein AAV-5-Vektor, der eine kodon-optimierte, B-Domain-deletierte F8-Sequenz unter Kontrolle eines leberspezifischen Promoters exprimiert.

Methodik

Es handelt sich um eine offene Phase-1/2-Studie, bei der die Dosis des Vektors schrittweise eskaliert wurde (Teilnehmer 1: 6×10^{12} Vektorgenome pro kg Körpergewicht; Teilnehmer 2: 2×10^{13} ; Teilnehmer 3 bis 9: 6×10^{13}). Die Teilnehmer waren vorbehandelte, erwachsene Patienten ohne Hemmkörper (≥ 150 Expositionstage), die keine vorbestehende Immunreaktion gegen AAV5 (zellbasierter und humoraler Assay) haben durften. Die Studie wurde von 09/2015 bis 04/2016 in Großbritannien durchgeführt. Eine zuvor durchgeführte Faktor-VIII-Prophylaxe wurde beendet, so dass weitere FVIII-Infusionen nur bei Bedarf im Blutungsfall durchgeführt wurden. Das Protokoll sah bei Anstieg der ALT um mehr als das 1,5fache eine Therapie mit Kortikosteroiden vor (Prednisolon 60 mg, auszuschleichen über ≥ 11 Wochen). Nachdem dies bei Teilnehmer 3 (erster Patient der Hochdosis-Kohorte) erforderlich war, wurde Prednisolon bei allen weiteren Teilnehmern bereits prophylaktisch gegeben (40 mg Woche 3 bis 17 oder länger).

Ergebnisse

Eine Zusammenfassung ist in Tabelle 12 und den Abb. 4 und 5 dargestellt. Bei Teilnehmer 1 (niedrige Dosis) wurde keine FVIII-Expression festgestellt. Bei Teilnehmer 2 (mittlere Dosis) wurde eine FVIII-Expression von 1-3% festgestellt, die bereits zu einer Reduktion des FVIII-Jahresverbrauchs führte. Bei den Teilnehmern 3 bis 9 stieg die FVIII-Expression bis in Woche 20 auf Werte innerhalb des Referenzbereichs an. Die annualisierte Blutungsrate dieser Patienten lag bei 0 bis 3,5; der FVIII-Verbrauch lag bei 0 bis 676 IU/kg pro Jahr und damit deutlich unterhalb des typischen Verbrauchs von Prophylaxe-Patienten.

Bei 8 der 9 Teilnehmer war ein Anstieg der Leberwerte zu verzeichnen. Dieser begann in der Regel nach 3 Wochen und erreichte Spitzenwerte von 59 bis 128 U/l. Bilirubin- oder AP-Anstiege wurden nicht beobachtet. Kein Patient hatte eine symptomatische Hepatitis. Die ab Teilnehmer 4 durchgeführte prophylaktische Steroidtherapie zeigte keine klare Assoziation zwischen Dosierung und Effekt auf die ALT. Bei einem Patienten (Teilnehmer 4) bestand eine Assoziation zwischen ALT-Anstieg und Abfall der FVIII-Expression.

AAV-5-spezifische Kapsid-Antikörper waren bei allen Teilnehmern ab Woche 5 detektierbar, nicht jedoch AAV-5-spezifische zelluläre Immunreaktionen. Bei Teilnehmer 6 und 9 waren zu jeweils einem Zeitpunkt Immunreaktionen gegen Faktor-VIII-Peptide (IFN- γ -ELISPOT) detektierbar.

Vektor-DNA war ab 72 h nach der Behandlung in biologischen Flüssigkeiten (Blut, Sperma, Speichel, Urin, Fäzes) nachweisbar. Diese waren zumindest in der Hochdosis-Kohorte auch bis Woche 52 nachweisbar.

Characteristic	Intermediate Dose		High Dose						
	Participant 1	Participant 2	Participant 3	Participant 4	Participant 5	Participant 6	Participant 7	Participant 8	Participant 9
At baseline									
Age (yr)	25	43	32	23	28	30	30	28	42
Race†	Asian	White	White	Asian	White	White	White	White	White
Weight (kg)	71	103	89	60	70	81	86	72	77
Genetic mutation	Intron 22 inversion	Intron 22 inversion	Intron 22 inversion	Single nucleotide duplication	2-bp deletion	Nonsense mutation (A2)	Missense mutation (A2)	Splice-site mutation (intron 2)	Single nucleotide duplication
Factor VIII use									
Type of replacement therapy	Prophylactic	Prophylactic	Prophylactic	On demand	Prophylactic	Prophylactic	Prophylactic	Prophylactic	Prophylactic
Consumption in previous year (IU/kg/yr)	3792	3029	4218	833‡	5460	5903	3634	5112	6373
Annualized bleeding rate in year before enrollment (no. of events)	2	3	9	—§	1	24	40	24	0
ALT (U/liter)	24	22	12	16	32	17	45	28	26
History of HCV infection	Negative	Positive, cleared	Negative	Negative	Negative	Negative	Positive, cleared	Negative	Positive, cleared
After gene transfer									
Factor VIII activity (IU/dl)¶									
At 20 wk	NA	2	72	219	237	12	142	36	109
At 52 wk	NA	2	100	76	164	19	141	77	77
Time until factor VIII activity level >5 IU/dl (wk)¶	NA	NA	4	2	6	9	2	2	2
Annualized bleeding rate after factor VIII activity level >5 IU/dl (no. of events)¶	NA	NA	0	1	0	3.5	0	0	0
Total factor VIII consumption (IU/kg/yr)	3461	366	33	81	139	676	89	40	0
Peak ALT (U/liter)	128	33	60	95	82	87	59	81	66
Total duration of glucocorticoid use (wk)	0	0	23	26	17	32	13	24	14

* The low-dose cohort included one participant, who received 6×10^{12} vector genomes (vg) per kilogram of body weight; the intermediate-dose cohort included one participant, who received 2×10^{13} vg per kilogram; and the high-dose cohort included seven participants, who received 6×10^{13} vg per kilogram. The normal range for the alanine aminotransferase (ALT) level is 6 to 43 U per liter. HCV denotes hepatitis C virus, and NA not applicable.

† Race was reported by the participant and recorded in his medical chart.

‡ The value for Participant 4 was calculated from prescription-utilization data.

§ The value was not available for Participant 4.

¶ Factor VIII values are from the one-stage assay performed by a central laboratory (Esoterix); the normal range is 50 to 150 IU per deciliter. Week 20 values are reported here as being representative of the time point after which factor VIII activity levels were approximately stable in all participants. Participant 1 did not have data for factor VIII activity available within a 72-hour period since the last consumption of exogenous factor VIII.

Tab. 12: Basisdaten und Ergebnisse der Therapie mit BMN 270. Aus: Rangarajan et al. *N Engl J Med.* 2017; 377 (26): 2519-2530 (23).

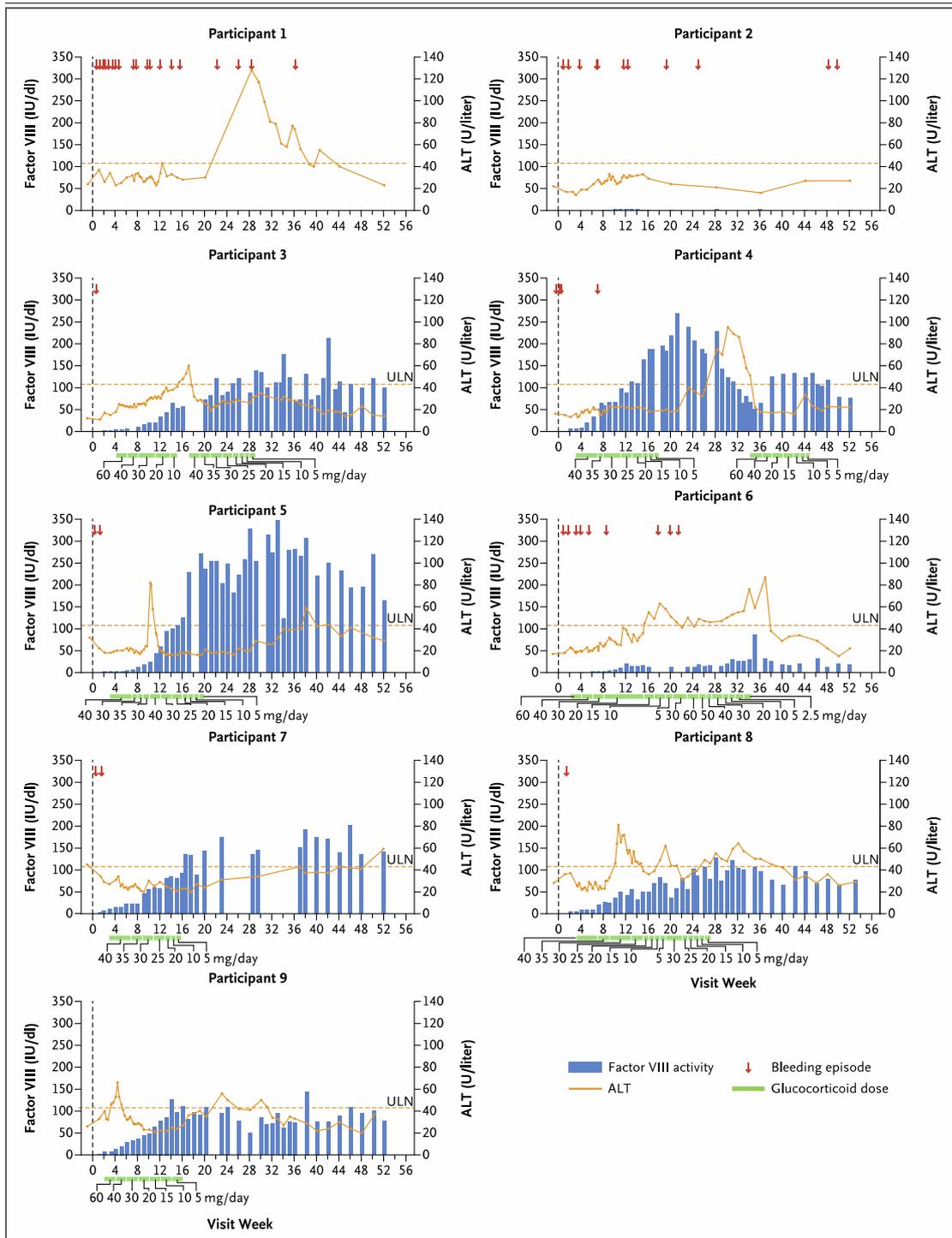


Abb. 4: Individuelle Profile der Faktor VIII Expression, Transaminasen-Erhöhung und Kortikosteroid-Therapie mit BMN 270. Vektordosis (Vektorgenome pro kg Körpergewicht): 6×10^{12} (Teilnehmer 1), 2×10^{13} (Teilnehmer 2), 6×10^{13} (Teilnehmer 3 bis 9). Aus: Rangarajan et al. *N Engl J Med.* 2017; 377 (26): 2519-2530 (23).

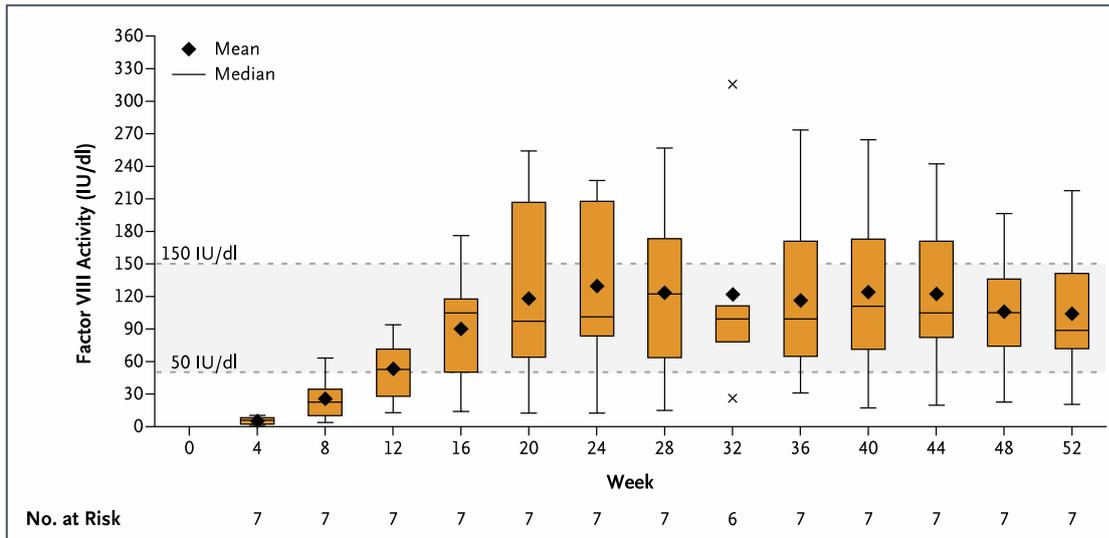


Abb. 5: Faktor-VIII-Expression in der Hochdosis-Kohorte (6×10^{13} Vektorgenome pro kg Körpergewicht). Aus: Rangarajan et al. *N Engl J Med.* 2017; 377 (26): 2519-2530 (23).

Bedeutung für die klinische Praxis

Nach vielen Jahren der Entwicklung zeigt die Gentherapie der Hämophilie in den letzten Jahren einen sprunghaften Anstieg ihrer Effektivität, so dass sie wieder eine realistischere Perspektive als potenzielle zukünftige Therapie erlangt. Die Expression von Faktor VIII ist dabei wegen der Größe des Gens wesentlich anspruchsvoller als die Expression von Faktor IX. Hohe Vektordosen, die bislang ohne schwerwiegende Nebenwirkungen angewendet wurden, zeigten jedoch auch hier klinisch relevante Expressionslevel, jedoch mit großer individueller Varianz

Literatur

1. Mahlangu J, Powell JS, Ragni MV, Chowdary P, Josephson NC, Pabinger I, Hanabusa H, Gupta N, Kulkarni R, Fogarty P, Perry D, Shapiro A, Pasi KJ, Apte S, Nestorov I, Jiang H, Li S, Neelakantan S, Cristiano LM, Goyal J, Sommer JM, Dumont JA, Dodd N, Nugent K, Vigliani G, Luk A, Brennan A, Pierce GF, Investigators AL. Phase 3 study of recombinant factor VIII Fc fusion protein in severe hemophilia A. *Blood*. 2014; 123 (3): 317-325.
2. Konkle BA, Stasyshyn O, Chowdary P, Bevan DH, Mant T, Shima M, Engl W, Dyck-Jones J, Fuerlinger M, Patrone L, Ewenstein B, Abbuehl B. Pegylated, full-length, recombinant factor VIII for prophylactic and on-demand treatment of severe hemophilia A. *Blood*. 2015; 126 (9): 1078-1085.
3. Reding MT, Ng HJ, Poulsen LH, Eyster ME, Pabinger I, Shin HJ, Walsch R, Lederman M, Wang M, Hardtke M, Michaels LA. Safety and efficacy of BAY 94-9027, a prolonged-half-life factor VIII. *J Thromb Haemost*. 2017; 15 (3): 411-419.
4. Giangrande P, Andreeva T, Chowdary P, Ehrenforth S, Hanabusa H, Leebeek FW, Lentz SR, Nemes L, Poulsen LH, Santagostino E, You CW, Clausen WH, Jonsson PG, Oldenburg J, Pathfinder I. Clinical evaluation of glycoPEGylated recombinant FVIII: Efficacy and safety in severe haemophilia A. *Thromb Haemost*. 2017; 117 (2): 252-261.
5. Mahlangu J, Kuliczowski K, Karim FA, Stasyshyn O, Kosinova MV, Lepatan LM, Skotnicki A, Boggio LN, Klamroth R, Oldenburg J, Hellmann A, Santagostino E, Baker RI, Fischer K, Gill JC, P'Ng S, Chowdary P, Escobar MA, Khayat CD, Rusen L, Bensen-Kennedy D, Blackman N, Limsakun T, Veldman A, St Ledger K, Pabinger I, Investigators A. Efficacy and safety of rVIII-SingleChain: results of a phase 1/3 multicenter clinical trial in severe hemophilia A. *Blood*. 2016; 128 (5): 630-637.
6. Collins PW, Young G, Knobe K, Karim FA, Angchaisuksiri P, Banner C, Gursel T, Mahlangu J, Matsushita T, Mauser-Bunschoten EP, Oldenburg J, Walsh CE, Negrier C, paradigm I. Recombinant long-acting glycoPEGylated factor IX in hemophilia B: a multinational randomized phase 3 trial. *Blood*. 2014; 124 (26): 3880-3886.
7. Powell JS, Pasi KJ, Ragni MV, Ozelo MC, Valentino LA, Mahlangu JN, Josephson NC, Perry D, Manco-Johnson MJ, Apte S, Baker RI, Chan GC, Novitzky N, Wong RS, Krassova S, Allen G, Jiang H, Innes A, Li S, Cristiano LM, Goyal J, Sommer JM, Dumont JA, Nugent K, Vigliani G, Brennan A, Luk A, Pierce GF, Investigators BL. Phase 3 study of recombinant factor IX Fc fusion protein in hemophilia B. *N Engl J Med*. 2013; 369 (24): 2313-2323.
8. Santagostino E, Martinowitz U, Lissitchkov T, Pan-Petes B, Hanabusa H, Oldenburg J, Boggio L, Negrier C, Pabinger I, von Depka Prondzinski M, Altisent C, Castaman G, Yamamoto K, Alvarez-Roman MT, Voigt C, Blackman N, Jacobs I, Group P-FIS. Long-acting recombinant coagulation factor IX albumin fusion protein (rIX-FP) in hemophilia B: results of a phase 3 trial. *Blood*. 2016; 127 (14): 1761-1769.
9. Tiede A. Half-life extended factor VIII for the treatment of hemophilia A. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 Suppl 1: S176-179.
10. Shapiro AD, Ragni MV, Valentino LA, Key NS, Josephson NC, Powell JS, Cheng G, Thompson AR, Goyal J, Tubridy KL, Peters RT, Dumont JA, Euwart D, Li L, Hallen B, Gozzi P, Bitonti AJ, Jiang H, Luk A, Pierce GF. Recombinant factor IX-Fc fusion protein (rFIXFc) demonstrates safety and prolonged activity in a phase 1/2a study in hemophilia B patients. *Blood*. 2012; 119 (3): 666-672.
11. Santagostino E, Negrier C, Klamroth R, Tiede A, Pabinger-Fasching I, Voigt C, Jacobs I, Morfini M. Safety and pharmacokinetics of a novel recombinant fusion protein linking coagulation factor IX with albumin (rIX-FP) in hemophilia B patients. *Blood*. 2012; 120 (12): 2405-2411.
12. Tiede A, Abdul-Karim F, Carcao M, Persson P, Clausen WHO, Kearney S, Matsushita T, Negrier C, Oldenburg J, Santagostino E, Young G. Pharmacokinetics of a novel extended half-life glycoPEGylated factor IX, nonacog beta pegol (N9-GP) in previously treated patients with haemophilia B: results from two phase 3 clinical trials. *Haemophilia*. 2017; 23 (4): 547-555.
13. Nolan B, Mahlangu J, Perry D, Young G, Liesner R, Konkle B, Rangarajan S, Brown S, Hanabusa H, Pasi KJ, Pabinger I, Jackson S, Cristiano LM, Li X, Pierce GF, Allen G. Long-term safety and efficacy of

Angeborene Thrombozytopenie/pathie

Prof. Dr. Barbara Zieger

Sektionsleiterin Pädiatrische Hämostaseologie

Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg

E-Mail: barbara.zieger@uniklinik-freiburg.de

State of the Art	3
Übersicht der wichtigsten Thrombozytenpathien und -penien	5
Highlight 1: Heterozygote Varianten der Glanzmann-Gene <i>ITGA2B</i> und <i>ITGB3</i> führen zu dominanter Makrothrombozytopenie und vergrößerten α -Granula	17
Highlight 2: Das Hermansky-Pudlak-Syndrom Typ 4 (HPS4)	20
Highlight 3: Nutzen und Einschränkungen von Exom-Sequenzierung bei angeborener Thrombozytopathie/-penie	23
Literatur	26

State of the Art

Thrombozyten spielen eine wichtige Rolle bei der Blutgerinnung, indem sie durch Thrombozyten-Adhäsion und -Aggregation zur Thrombusbildung beitragen. Bei einer angeborenen Thrombozytopathie besteht eine thrombozytäre Funktionsstörung, sie kann mit einer Erniedrigung der Thrombozytenzahl einhergehen (Thrombozytopenie). Angeborene Thrombozytopenien/pathien (inherited platelet disorders; IPDs) sind eine sehr heterogene Gruppe von Erkrankungen, die phänotypisch und biochemisch sehr unterschiedlich sind. Das Ausmaß der Blutungsneigung kann stark variieren; zur Symptomatik können Epistaxis, mukokutane Blutungen, Hämatomneigung, Petechien, gastrointestinale Blutungen und Menorrhagien gehören. Nach Trauma oder chirurgischen Eingriffen können lebensbedrohliche Blutungen auftreten. Klassisch werden Thrombozytenfunktionsstörungen auf Grund Ihres zu Grunde liegenden Defektes unterschieden in:

- I. Rezeptordefekte
- II. Sekretionsdefekte
- III. Signaltransduktionsstörungen
- IV. Zytoskelettdefekte
- V. Defekte der Megakaryopoese
- VI. Defekte der Membranphospholipide

Die aktuelle Leitlinie der GTH zur Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen und Thrombozytopenien (AWMF-Register Nr. 086-003) enthält detaillierte Informationen zu klinischer Präsentation, OMIM-Nummer, Vererbungsmodus, genetischen Defekt und den wichtigsten Diagnosekriterien.

Stufenweises Vorgehen der Diagnostik

Zur differenzialdiagnostischen Abklärung einer angeborenen Thrombozytopenie/pathie sind verschiedene Untersuchungsmethoden notwendig: essentiell sind *Thrombozytenzahl-bestimmung* und *Beurteilung des peripheren Blutausstrichs*. Für eine weitere zielgerichtete Diagnostik ist ein stufenweises Vorgehen empfehlenswert:

- *Thrombozytenaggregometrie nach Born*: Messung der Lichttransmission in plättchenreichem Plasma nach Zugabe von Agglutinations- bzw. Aggregations-induzierenden Agonisten, z.B. Ristocetin, Kollagen, Epinephrin, Adenosindiphosphat (ADP) oder Arachidonsäure (1, 2).
- *Durchflusszytometrie*: Analyse der Expression und Funktion der Thrombozytenrezeptoren sowie der thrombozytären α - und δ -Granula-Sekretion
- *Molekulargenetik*: Hochdurchsatzsequenzierung (Next Generation Sequencing, NGS) oft mittels Paneldiagnostik, Sanger Sequenzierung für Kandidatengene

- *Elektronenmikroskopische Untersuchung der Thrombozyten:* Aufklärung von Strukturdefekten, wie z.B. Verlust der thrombozytären Granula
- *Immunfluoreszenzmikroskopie:* an wenigen Zentren für die Diagnose einiger Erkrankungen etabliert (3)

Die in-vivo Blutungszeit (z.B. nach Ivy) wird von der Leitlinie nicht mehr empfohlen, jedoch kann eine verlängerte Blutungszeit bei normaler Thrombozytenzahl auf eine Thrombozytopathie hinweisen. Da Thrombozytenuntersuchungen einer zeitnahen Bearbeitung bedürfen, müssen Patienten weiterführend oft in spezialisierten Zentren untersucht werden.

Übersicht der wichtigsten Thrombozytenpathien und -penien

I. Rezeptordefekte

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. Bernard Soulier Syndrom (BSS)	GPIb/V/IX	GP1BA, GP1BB, GP9 / AR, AD
2. Plättchentyp von Willebrand - Erkrankung (PTvWD)	GPIb/V/IX (genauer: GPIb α vWF-Bindungsstelle)	GP1BA / AD („Gain of function“)
3.1. Glanzmann Thrombasthenie (GT), 3.2. Autosomal dominante GT-Variante	α IIb β 3 (GPIIa/IIIb)	ITGA2B, ITGB3 / AR ITGA2B, ITGB3 / AD
4. Defekte der Kollagenrezeptoren: α2β1 GPVI	α 2 β 1 (GPIa/IIa) GPVI	ITGA2 / AD GP6 / AR
5. Defekte des Thrombin-Rezeptors	PAR1, PAR4	F2R
6. ADP-Rezeptor-Defekte	P2Y12-Rezeptor	P2RY12 / AR
7. Thromboxan A2 (TxA2)-Rezeptor-Defekt	TxA2-Rezeptor	TBXA2R / AD

Tab. 1: Thrombozytäre Rezeptordefekte; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant

1. Bernard-Soulier-Syndrom (BSS)

Der thrombozytäre GPIb/V/IX-Rezeptorkomplex vermittelt die Adhäsion der Thrombozyten an den vWF und bewirkt die Thrombozytenaktivierung (4). Mutationen in den Genen *GP1BA*, *GP1BB* bzw. *GP9*, die für die Untereinheiten des GPIb/V/IX-Rezeptorkomplexes kodieren (GPIb α , GPIb β bzw. GPIX) sind ursächlich für die Erkrankung BSS (OMIM #231200) (5, 6). Bisher wurde bei Patienten mit BSS noch keine Mutation im *GP5*-Gen (GPV) beschrieben. Typisch für BSS sind Riesenthrombozyten und eine pathologische Thrombozytenagglutination nach Stimulation mit Ristocetin. Die *in-vivo* Blutungszeit ist deutlich verlängert. Die Thrombozytenzahl liegt oft unter $100 \times 10^9/l$, kann aber auch normal sein. In der Durchflusszytometrie der Thrombozyten findet sich eine reduzierte Expression von GPIb/V/IX und/oder eine reduzierte Funktion dieses Rezeptors (vWF-Anbindung) (7). Bislang sind über 60 pathogene Varianten in den Genen *GP1BA* (28%), *GP1BB* (28%) und *GP9* (44%) beschrieben (8). Die Europäische Founder Mutation in *GP9* c.182A>G (p.Asn61Ser) ist die am häufigsten beschriebene pathogene Variante für BSS (9) und scheint mit einem milderem Phänotyp assoziiert zu sein (10). Meist wird das BSS autosomal rezessiv vererbt, in manchen Fällen aber auch autosomal dominant.

2. Plättchentyp-von-Willebrand-Erkrankung (PTvWD)

Die PTvWD (OMIM #177820) wird durch eine autosomal-dominant vererbte Mutation im *GP1BA*-Gen, das für die Untereinheit GPIb α (vWF-Bindungsstelle) des GPIb/V/IX-Komplexes kodiert, verursacht. Bei dieser Funktionsstörung handelt es sich um eine „gain-of-function“-Mutation, die zu einer verstärkten Thrombozyteninteraktion mit dem vWF und somit zu Spontanaggregationen der Patiententhrombozyten und somit zu einer Thrombozytopenie führt (11).

3.1. Glanzmann-Thrombasthenie (GT) /

3.2 Autosomal-dominante Makrothrombozytopenie

Die GT (OMIM #273800) ist die am häufigsten diagnostizierte Thrombozytopathie. Meist liegt eine autosomal-rezessiv vererbte Störung des Fibrinogenrezeptors Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Glykoprotein GPIIb/IIIa) vor, welche sich durch eine fehlende Aggregation mit fast allen Agonisten, außer Ristocetin bemerkbar macht. Die Thrombozytenzahl der Patienten ist normal. Verursacht wird GT durch Mutationen in den Genen *ITGA2B* bzw. *ITGB3*, die für die Untereinheiten α_{IIb} (GPIIb) bzw. β_3 (GPIIIa) kodieren. Typisch sind eine reduzierte $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Expression und eine erniedrigte Fibrinogenanbindung (pathologische Funktion dieses Rezeptors in Durchflusszytometrie- und Proteomics-Analysen) (12). Vom Bild einer klassischen GT weicht die dominante Makrothrombozytopenie ab, die mit heterozygoten Mutationen in den GT-Genen *ITGA2B* und *ITGB3* assoziiert ist (siehe Highlight 1).

4. Kollagenrezeptoren: GPVI und $\alpha_2\beta_1$ -Integrin (GPIa/IIa)

Der Kollagenrezeptor GPVI vermittelt wie das $\alpha_2\beta_1$ -Integrin (GPIa/IIa) die Thrombozytenbindung an Kollagen. Bei Patienten mit einer leichten Blutungsneigung wurde ein Defekt der Kollagenrezeptoren $\alpha_2\beta_1$ (GPIa/IIa) (OMIM #614200) oder GPVI (OMIM #614201) nachgewiesen, d.h. bei diesen Patienten ist die Antwort auf Stimulation mit Kollagen gestört. Das Schlangengift Convulxin, ein Agonist des GPVI-Rezeptors, wird zu diagnostischen Zwecken eingesetzt (13).

5. Thrombin-Rezeptoren

Nach Thrombinbindung werden Thrombozyten über G-Proteine aktiviert. Der Thrombin-Rezeptor PAR1 (Protease-aktivierter Rezeptor-1) ist der wichtigste thrombozytäre Thrombin-Rezeptor. Thrombin spaltet die extrazelluläre Domäne von PAR1 und bedingt eine Konformationsänderung der transmembranen Domäne und Signalfortleitung über G-Proteine. PAR4 ist ein Thrombin-Rezeptor mit niedriger Affinität. Die Stimulation von PAR1 und PAR4 führt zur Ca^{2+} -Mobilisation. Dies initialisiert einen raschen thrombozytären Formwandel und Granula-Sekretion (14).

6. ADP-Rezeptor (P2)-Defekte

ATP und ADP vermitteln ihre Wirkung über drei thrombozytäre ADP-(P2)-Rezeptoren: P2X₁, P2Y₁ und P2Y₁₂ (15). P2X₁ ist ein Liganden-spezifischer Ionenkanal für monovalente oder divalente Kationen (z.B. Na⁺, K⁺, Ca²⁺), der durch ATP aktiviert wird und zur Stabilisierung des Thrombus beiträgt. In Thrombozyten vermittelt ADP seine Wirkung über die beiden G-Protein-gekoppelten P2Y₁- und P2Y₁₂-Rezeptoren. ADP verstärkt die durch andere Thrombozytenagonisten induzierte Thrombozytenantwort (Formänderung, Aggregation, Granula-Sekretion) und stabilisiert somit die Thrombozytenaggregate. Während der P2Y₁-Rezeptor (G_q-Protein gekoppelt) in erster Linie für die Formänderung der Thrombozyten verantwortlich ist, spielt P2Y₁₂ (G_i-Protein

gekoppelt) vor allem bei der Thrombozytenaktivierung eine Rolle. Ticlopidin, Clopidogrel, Prasugrel und Ticagrelor hemmen den P2Y₁₂-Rezeptor irreversibel und werden als antithrombotische Medikamente eingesetzt (16, 17). Mutationen im P2Y₁₂-Rezeptor (OMIM #600515) führen in der Aggregometrie zu einer reduzierten und reversiblen Aggregation nach Stimulation mit ADP. Eine verringerte Ligandenbindung bzw. Ligandenbindungsaffinität des P2Y₁₂-Rezeptors sowie eine Störung des Signaltransduktionsweges wurden beschrieben (18).

7. Thromboxan A₂ (TxA₂)-Rezeptor-Defekt

Siehe Thromboxan-Synthese.

II. Thrombozytäre Sekretionsdefekte

Thrombozyten enthalten drei Gruppen intrazellulärer sekretorischer Organellen: α -Granula, δ -Granula und Lysosomen. Die am häufigsten vorkommenden thrombozytären Granula sind die α -Granula (40 bis 80 α -Granula pro Thrombozyt, Größe 200-500 nm). Sie enthalten membrangebundene Proteine, die nach Thrombozytenaktivierung auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert werden (z.B. das Adhäsionsmolekül P-Selektin) und lösliche Proteine, die in den Extrazellularraum ausgeschüttet werden (z.B. vWF, Thrombospondin, Faktor V oder Fibrinogen). Megakaryozyten und Thrombozyten können durch Endozytose Fibrinogen und Faktor V aus dem Extrazellularraum aufnehmen und in α -Granula speichern. δ -Granula („dense bodies“) sind Mitglieder der Lysosomen-verwandten Organellenfamilie, zu der auch Melanosomen und zytotoxische T-Zell-Granula gehören. δ -Granula sind kleiner und seltener in Thrombozyten vorzufinden als α -Granula (3 bis 9 δ -Granula pro Thrombozyt, Größe ca. 200 nm). In δ -Granula werden Nukleotide (ATP, ADP), Ionen (Ca²⁺, Mg²⁺, Pyrophosphat) sowie Serotonin und Histamin gespeichert. Typische Marker für δ -Granula und ihre Sekretion sind Serotonin und das Membranprotein CD63 (Granulophysin, LAMP3). In ruhenden Thrombozyten sind α - und δ -Granula über den gesamten Thrombozyten verteilt. Dazwischen liegt das Aktinzytoskelett, welches als Barriere zwischen den Granula wirkt und nach Thrombozytenaktivierung seine Vernetzung auflöst, um neue Interaktionen einzugehen und damit die Granula-Sekretion auszulösen. Die Granula fusionieren untereinander und mit der Thrombozytenoberfläche, um ihren Inhalt an den Extrazellularraum abzugeben. Freisetzungsstörungen dieser Granula führen zu Thrombozytopenien, die auch als Storage pool-Erkrankungen (SPD) bezeichnet werden. Es können α -Granula, δ -Granula oder beide betroffen sein. Die Verminderung der δ -Granula in Megakaryozyten und Thrombozyten gilt als die häufigste angeborene Ursache einer Thrombozytopenie (10-18% der Patienten mit Thrombozytopenie). Ihre genetischen Ursachen sind bislang meist unklar (19, 20). Häufig sind thrombozytäre Sekretionsstörungen mit syndromalen Erkrankungen assoziiert.

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. α-Granula Defekte		
1.1. Gray platelet Syndrom (GPS)		<i>NBEAL2</i> / AR <i>GF1B</i> / AD
1.2. Arthrogyryposis-renale-tubuläre-Dysfunktion-Cholestase Syndrom (ARC-Syndrom)		<i>VPS33B</i> / AR <i>VIPAS39</i> / AR
1.3. Paris-Trousseau Syndrom und Jacobsen Syndrom		<i>FLI1</i> / AD Del11q23 (<i>FLI1</i>) / AD
1.4. Quebec Thrombozytendefekt (isoliert)	Urokinase-Plasminaktivator	<i>PLAU</i> (Duplication) / AD
2. δ-Granula Defekte		
2.1. Hermansky Pudlak Syndrom (HPS)	Proteine der Vesikelbildung und -trafficking	<i>HPS1, AP32B1, HPS3, HPS4, HPS5, HPS6, DTNBP1, BLOC1S3, PLDN, HPS10</i> / alle AR
2.2. Chediak Higashi Syndrom (CHS)	Lysosomal Trafficking Regulator	<i>LYST</i> / AR
2.3. Griselli Syndrom	Melanosome	Typ1 <i>MYO5a</i> / AR Typ3 <i>MLPH</i> / AR Typ2 <i>RAB27A</i> / AR
2.4. SLFN14-assoziierte Thrombozytopenie (isoliert)	Schlafen (SLFN14)	<i>SLFN14</i> / AD
3. α/δ-Granula Sekretionsstörung		
3.1. Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose	Perforin (FHL-2) Munc13-4 (FHL-3) Syntaxin11 (FHL-4) Munc18-2 (FHL-5)	<i>PRF1</i> / AR <i>UNC13D</i> / AR <i>STX11</i> / AR <i>STXBP2</i> / AR

Tab. 2: α - und δ -Sekretionsdefekte der Thrombozyten; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant

1. α -Granula Defekte

1.1. Gray-platelet-Syndrom (GPS)

Aufgrund der stark reduzierten Anzahl der α -Granula erscheinen die Thrombozyten von GPS-Patienten im Blutaussstrich gräulich. Häufig sind thrombozytäre Vakuolen sichtbar, d.h. die α -Granula sind beim GPS zwar vorhanden, aber leer (21). Des Weiteren liegt eine Makrothrombozytopenie vor. Die Blutungsneigung ist sehr variabel. Durch die Freisetzung der Proteine der α -Granula im Knochenmark kann es zur Myelofibrose kommen. Vitamin B12 und soluble FASL (Marker für aktivierte T- und natürliche Killerzellen) waren bei GPS-Patienten erhöht (22). Bei einigen Patienten wurden erhöhte Werte für IgG bzw. Autoantikörper gemessen. Bisher sind autosomal-rezessiv vererbte Mutationen im *NBEAL2*-Gen als ursächlich für GPS beschrieben worden (OMIM # 139090). *NBEAL2* (neurobeachin-like 2), ein Mitglied der BEACH-Domäne-enthaltenden Proteine, ist in Thrombozyten in die Regulation der Membrandynamik und des intrazellulären Vesikeltransports involviert (23-25).

Hingegen wird das durch Mutationen im *GF1B*-Gen bedingte GPS autosomal-dominant vererbt. *GF1B* kodiert für den Transkriptionsfaktor-Repressor GF1B (growth factor independent 1B), der eine wichtige Rolle bei der Erythropoese und Megakaryozytenentwicklung spielt (26). Betroffenen Patienten fielen durch Riesenthrombozyten mit einer reduzierten Anzahl der α -Granula auf. Zudem zeigten die betroffenen Familienmitglieder eine vermehrte Fibrose in den Knochenmarksbiopsien.

1.2. Arthrogryposis-renale-tubulären-Dysfunktion-Cholestase (ARC)-Syndrom

Kinder mit einem (ARC)-Syndrom fallen häufig durch eine thrombozytär bedingte vermehrte Blutungsneigung in Kombination mit einer Arthrogryposis, einer renalen Tubulopathie und einer Cholestase auf. Sie versterben meist innerhalb der ersten beiden Lebensjahre. Die Thrombozyten dieser Patienten sind blass mit einer stark verminderten Anzahl an α -Granula, manchmal fehlen die α -Granula komplett. Die Ursache sind Defekte im membranassoziierten VPS33B-Protein, welches die SNARE-Proteine reguliert und in die Granula-Entwicklung involviert ist oder im VPS33B-interacting Protein (VPS33B-Gen (OMIM #208085) und VIPAS39-Gen (OMIM #613404)) (27, 28).

1.3. Paris-Trousseau-Syndrom und Jacobsen-Syndrom

Dem Paris-Trousseau-Syndrom (PTS, OMIM #188025) und Jacobsen-Syndrom (JBS, OMIM #147791) liegt ein Defekt im *FLI1*-Gen zugrunde. Der Defekt ist auf eine größere Deletion des Chromosoms 11, welches das *FLI1*-Gen umfasst, zurückzuführen (29). Die Patienten weisen eine Thrombozytopenie mit vergrößerten α -Granula, die nach Stimulation mit Thrombin eine Sekretionsstörung zeigen (29). Häufig leiden die Patienten zusätzlich an einem kongenitalen Herzvitium, fazialen Dysmorphien und einer psychomotorischen Retardierung (30).

1.4. Quebec-Thrombozytendefekt

Beim Quebec-Thrombozytendefekt (OMIM #601790) besteht eine Hochregulation des Urokinase-Plasminaktivators in den α -Granula. Dies führt zu einem vermehrten Abbau der α -Granula durch Plasmin. Die Ursache liegt in einer Duplikation im *PLAU* (Urokinase-Plasminogenaktivator)-Gen (31).

2. δ -Granula Defekte

2.1. Hermansky-Pudlak-Syndrom (HPS)

Das HPS wird in Highlight 2 erläutert.

2.2. Chediak-Higashi-Syndrom (CHS)

Patienten mit dem autosomal-rezessiv vererbaren CHS (OMIM #214500) leiden aufgrund einer Mutation im *LYST* (*lysosomal trafficking regulator/CHS1*)-Gen an einem Immundefekt, okulokutanem Albinismus, neurologischen Auffälligkeiten sowie einer milden thrombozytär bedingten Blutungsneigung (32). Das LYST-Protein ist in Trafficking-Prozesse der Lysosomen und δ -Granula involviert. Im Blutaussstrich sind typischerweise Peroxidase-positive Einschlüsse in Neutrophilen zu sehen. Die Mehrzahl der Patienten erleidet im Verlauf ihrer Krankheit eine Hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH) (33).

2.3. Griscelli-Syndrom

Die Patienten fallen sehr häufig durch Albinismus (silberne Haare und helle Haut) und Neutro- bzw. Panzytopenie auf und können im Verlauf der Erkrankung eine HLH entwickeln. Es werden drei Subtypen des Griscelli-Syndroms unterschieden: Griscelli-Syndrom Typ 1 wird durch eine *MYO5a*-Gen-Mutation verursacht (OMIM #214450), Typ 2 durch eine Mutation im *RAB27A*-Gen (OMIM #607624) und Typ 3 durch eine Mutation im *MLPH*-Gen (OMIM #609227) (34). Da das *RAB27A*-Protein für den Transport von Granula verantwortlich ist, führen Mutationen im Bereich des *RAB27A*-Gens zu einer intrazellulären Transportstörung.

2.4. *SLFN14* assoziierte Thrombozytopenie

Das Schlafen 14 (*SLFN14*)-Protein (OMIM #616913) ist in die Megakaryopoese und Thrombozytenreifung involviert. Bisher wurden einige Familien mit schwerer Blutungsneigung beschrieben, bei denen eine Reduzierung des *SLFN14*-Protein-Levels durch dominante Varianten im *SLFN14*-Gen vorlag. Ihre Thrombozytopenie ging mit einer Reduzierung der δ -Granula und einer gestörten Aggregation und ATP-Sekretion einher (35, 36).

3. α/δ -Granula Sekretionsstörung

3.1. Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose (FHL)

Die FHL ist eine genetische Erkrankung der lymphozytären Zytotoxizität, welche durch Mutationen im Perforin-kodierenden Gen (FHL-2) oder in Genen, die wichtige Proteine für intrazelluläres Trafficking und Exozytose von Perforin-haltigen lytischen Granula kodieren, verursacht wird (37, 38). Folgende Proteine können betroffen sein: Munc13-4 (FHL-3) (OMIM#608898) (39), Syntaxin 11 (FHL-4) (OMIM#603552) oder Munc18-2 (FHL-5) (OMIM#613101) (40). Die molekulare Maschinerie für den Transport von lytischen Granula überlappt teilweise mit der für den Transport von Lysosomen-verwandten Organellen in anderen Zellsystemen. Bei FLH-2 ist der Transport der lytischen Granula intakt, sie enthalten aber kein funktionelles Perforin. Hingegen ist Munc13-4 für das Verschmelzen der lysosomalen Granula mit der Zellmembran verantwortlich. Folglich ist bei FHL-3 die Granula-Sekretion in den synaptischen Spalt zwischen zytotoxischer T-Zelle und infizierter Zielzelle gestört.

III. Defekte der Signaltransduktion

Bislang sind nur wenige Patienten mit einer Störung in der Signaltransduktion beschrieben. Zu diesen Störungen zählen folgende Defekte:

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. Src Defekt	Tyrosine kinase Src	SRC
2. Defekte der Thromboxan (Tx)-Synthese:		
Phospholipase A_{2α} (PLA2)	PLA2	PLA2G4A
Prostaglandin-Endoperoxidase Synthase-1	PGHS1 (alias COX1)	PTGS1
Tx-Synthase	Tx-Synthase	TBXAS1
3. CalDAG-GEFI-Defekt	Guanine Exchange Factor-1 (CalDAG-GEFI)	RASGRP2
4. Leukozyten-Adhäsionsdefekt-III (LAD-III)	Kindlin-3	FERMT3 / AR

Tab. 3: Thrombozytäre Signaltransduktionsstörungen; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant

1. Src-Defekt

Die Formänderung der aktivierten Thrombozyten erfordert eine Reorganisation des Aktinzytoskeletts. Dabei ändert sich nach Bindung von Fibrinogen die Konformation des Fibrinogenrezeptors $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa) und ein intrazelluläres Signalnetzwerk wird aktiviert, welches die Organisation des Aktinzytoskeletts steuert. Die Signalvermittlung vom Integrin zum Zytoskelett wird durch die Proteinkinase Src eingeleitet. Src reguliert durch seinen Aktivierungszustand den Signalweg. Patienten mit einer „gain of function“ Variante im Src-Gen. zeigen eine Thrombozytopenie, Myelofibrose, schwere Blutungsdiathese und Knochendefekte (Zahnschmelz und Knochendysmorphismen). In den Thrombozyten wurde eine Reduktion der α -Granula und Vakuolen nachgewiesen, ähnlich wie beim GPS (41).

2. Defekte der Thromboxan-Synthese

Nach initialer Thrombozytenaktivierung („shape change“) kommt es zur Sekretion von Thromboxan-A₂ (TxA₂), ein von Thrombozyten endogen gebildeter, Metabolit der Arachidonsäure.

Die zytosolische Phospholipase A2 (cPLA A2; Gen: PLA2G4A) katalysiert die Freisetzung von Arachidonsäure. Aus Arachidonsäure wird (durch Cyclooxygenase und Peroxidasen) zunächst Prostaglandin H₂ (PGH₂) synthetisiert, woraus durch die Thromboxan-Synthase schließlich TxA₂ gebildet wird. TxA₂ stimuliert die Aktivierung neuer Thrombozyten und verstärkt die Aggregation über den Thromboxan-Rezeptor α (TP α) auf der Thrombozytenoberfläche. Thrombozytopathien sind bei Patienten mit einem angeborenen Defekt der cPLA A2 beschrieben (42). Beim Prostaglandin-Endoperoxidase Synthase-1-Defekt (früher COX1) ist die Bildung von PGH₂ und TxA₂ beeinträchtigt. Auch ein Thromboxan-Synthase-Defekt kann die Bildung von TxA₂ beeinträchtigen. Bei beiden Defekten ist die reduzierte Aktivierung durch Arachidonsäure in der Thrombozyten-Aggregometrie auffällig (43, 44).

3. Leukozyten-Adhäsionsdefekt Typ-III (LAD-III)

Der autosomal rezessiv vererbte LAD-III entsteht durch Mutationen im *FERMT3*-Gen, welches für das Kindlin-3-Protein kodiert (45). Kindlin-3 wird in hämatopoetischen Zellen exprimiert und interagiert mit dem Fibrinogenrezeptor $\alpha_{IIb}\beta_3$ und ist maßgeblich an der $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptoraktivierung beteiligt. Die Thrombozyten von Patienten mit LAD-III können nicht aggregieren, da eine Aktivierung des $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Rezeptors nicht möglich ist (obwohl dieser Rezeptor normal exprimiert wird). LAD-III-Patienten weisen einen schweren funktionellen Defekt der Leukozyten- und Thrombozytenintegrine β_1 , β_2 und β_3 auf. Dies erklärt den kombinierten immunologischen und thrombozytären Defekt, d.h. die Patienten leiden unter sehr schwer verlaufenden bakteriellen Infektionen und gleichzeitig vermehrter thrombozytär bedingter Blutungsneigung.

4. Defekt des CalDAG-GEFI

Die Transduktion des ADP-Signals führt einerseits nach P2Y₁-Bindung (G_q-gekoppelter ADP-Rezeptor) über Aktivierung der Phospholipase C (PLC) zur Generierung von Diacylglycerin (DAG) und Inositol 1,4,5-Triphosphat (IP₃), wodurch es zur Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) und einem Anstieg der zyttoplasmatischen Ca²⁺-Konzentration kommt.

ADP bindet außerdem an den P2Y₁₂-Rezeptor (G_i-gekoppelter ADP-Rezeptor), welcher die Adenylatzyklase (AC) inhibiert und über die Phosphoinositol-3-Kinase (PI3K) die kleine GTPase Rap1b aktiviert. In aktivierten Thrombozyten interagiert Rap1b mit dem reorganisierten Zytoskelett auf Aktinbasis. Rap1b wird durch Phosphorylierung, erhöhtes intrazelluläres Ca²⁺ und durch Agonisten-induzierte Stimulation von G_i aktiviert, was zu einer schnellen Bindung von GTP an Rap1b führt (46). Dieser Signalweg spielt eine Rolle bei der Inside-out Aktivierung des Integrins $\alpha_{IIb}\beta_3$. Die Rap1b-Aktivierung wird von CalDAG-GEFI getriggert, einem Ca²⁺- und DAG-regulierten Guaninnukleotid-Austauschfaktor für Rap1b (Guanine Exchange Factor-1). Mutationen im *RASGRP2*-Gen, das für CalDAG-GEFI kodiert, führen bei homozygoten Patienten zu einer Störung der Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Aktivierung und Aggregation. Der Thrombozytenphänotyp unterscheidet sich von GT durch eine normale $\alpha_{IIb}\beta_3$ -Expression (47). Die α - and δ -Granula-Sekretion, Thrombozytenausbreitung und Clot-Bildung sind kaum betroffen (48, 49).

IV. Defekte des Zytoskeletts

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. MYH9-assoziiertes Thrombozytendefekt	Nicht-Muskel-Myosins Typ IIA (NMMHC-IIA)	<i>MYH9</i> / AD
2. Wiskott-Aldrich Syndrom	WASP	WAS / XL
3. ADAP-Defekt	Adhesion and degranulation-promoting adaptor protein (ADAP)	FYB
4. Filamin A-Defekt (Filaminopathie)	Filamin A Protein-Kinase A	FLNA / XL PRKACG
5. α-Actinin 1-Defekt	α -Actinin 1	ACTN1 / AD

Tab. 4: Thrombozytäre Zytoskelettdefekte; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant AR; XL, X-chromosomal

1. *MYH9-assoziierte Thrombozytendefekte*

MYH9-assoziierte Thrombozytendefekte umfassen die May-Hegglin-Anomalie, das Sebastian-Syndrom, das Fechner-Syndrom und das Epstein-Syndrom, wobei die May-Hegglin-Anomalie (kein Hörverlust, keine Nephropathie) die häufigste Form dieser Erkrankungen ist. Ursache sind Mutationen im *MYH9*-Gen, das für die schwere Kette des Nicht-Muskel-Myosins Typ IIA (NMMHC-IIA) kodiert, welche seine IQ-Domäne und eine myosinkopfähnliche Domäne enthält, die an mehreren wichtigen Funktionen beteiligt ist, darunter Zytokinese, Zellbeweglichkeit und Aufrechterhaltung der Zellform. Die Lokalisation der Mutation im *MYH9*-Gen bestimmt das Ausmaß der Erkrankungen. Bei Mutation im N-terminalen Anteil des *MYH9*-Gens werden zusätzlich progressive Taubheit, Katarakt oder Nephropathie beobachtet (Fechner-Syndrom), da MYH9 auch in der Cochlea und der Niere exprimiert wird. Im hämatopoetischen System sind Thrombozyten und neutrophile Granulozyten betroffen, da sie MYH9 als einzige Myosin-II-Isoform exprimieren. Charakteristischerweise findet sich bei allen eine Thrombozytopenie ($30-100 \times 10^9/l$) mit einer in der Regel mild ausgeprägten Blutungsneigung. Das mutierte Protein bewirkt in Megakaryozyten eine fehlerhafte Organisation des Zytoskeletts. Dies führt zur Störung der Thrombozyten-Abschnürung und letztendlich zur Makrothrombozytopenie. Die Aggregation des veränderten Proteins führt vermutlich zur Bildung der typischen Döhle-Körperchen in Granulozyten (50, 51).

2. *Wiskott-Aldrich-Syndrom*

Das Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS) wird durch eine Mutation im *WAS*-Gen verursacht. Typisch ist die X-chromosomale Thrombozytopenie. Patienten mit WAS leiden häufig an Ekzemen, Immundefekt und Mikrothrombozytopenie. Die Symptome dieser Erkrankung sind sehr variabel und reichen von schweren kombinierten Formen bis zur Thrombozytopenie ohne Immundefekt. Patienten mit der ausgeprägten Form des WAS können mit einer Stammzelltransplantation geheilt werden. Das WAS-Protein (WASP) reguliert die Aktinfilamentorganisation im Zytoskelett. Wahrscheinlich sind Störungen bei Bildung und Aufbau des Zytoskeletts und eine erhöhte Abbaurate der Thrombozyten ursächlich für die Thrombozytopenie. Die Anzahl der δ -Granula ist deutlich vermindert (52, 53).

3. *ADAP-Defekt*

Das *FYB*-Gen kodiert für das „Adhesion and Degranulation-promoting Adaptor Protein“ (ADAP), ein hämatopoietisch-spezifisches Protein, das in Thrombozytenaktivierung, Zellmotilität, Proliferation und Integrin-vermittelte Zelladhäsion involviert ist. Homozygote Mutationen im *FYB*-Gen führen zu einer milden Mikrothrombozytopenie. Hierbei zeigten die Thrombozyten dieser Patienten eine erhöhte basale P-Selektin- und PAC-1-Expression und eine reduzierte Adhäsion der Thrombozyten an Fibrinogen und VWF (54).

4. Filamin A-Defekt

Mutationen im Filamin A-Gen (*FLNA*) können mit einer Makrothrombozytopenie und aufgrund eines neuronalen Migrationsdefekts mit einer periventrikulären nodulären Heterotopie assoziiert sein. *FLNA* wird X-chromosomal vererbt (55).

Patienten mit einer Mutation im *PRKACG*-Gen, das für die Protein-Kinase A kodiert, weisen eine Makrothrombozytopenie auf. Diese Mutation führt zu einer vermehrter Filamin A-Degradation, Störung der Thrombozytensekretion, der Ca²⁺-Mobilisation sowie der Zytoskelett-Organisation (56).

5. α -Actinin 1-Defekt

α -Actinin 1 ist in die Organisation des Zytoskeletts involviert. Mutationen im kodierenden Gen (*ACTN1*) führen zu Makrothrombozytopenie und Dysorganisation der Aktinfilamente. Da α -Actinin mit diversen Zytoskelettproteinen und Rezeptoren (z.B. β -Integrin) interagiert, ist eine Formation der Thrombozyten-Vorläuferzellen gestört (57, 58).

V. Defekte der Megakaryopoese

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. Amegakaryozytäre Thrombozytopenie (CAMT)	Thrombopoetin-Rezeptor	MPL / AR
2. Defekte der Transkriptionsfaktoren:		
Familial platelet disorder with associated myeloid malignancy (FPD/AML)	RUNX1	RUNX1 / AD
FLI1-related α-Granula Defekt (s.o. Paris-Trousseau Syndrom)	FLI1	FLI1
GATA1-Defekt	GATA-Bindungsprotein 1 (GATA1)	GATA1 / XL
GFI1B-Defekt	GFI1B	GFI1B / AD
ETV6-Defizienz	ETV6	ETV6 / AD

Tab. 5: Störungen der Megakaryopoese; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant AR; XL, X-chromosomal

1. Amegakaryozytäre Thrombozytopenie

Die autosomal-rezessiv vererbte kongenitale amegakaryozytäre Thrombozytopenie (CAMT) ist durch einen Mangel an Megakaryozyten im Knochenmark bedingt. Der Megakaryozytenmangel wird durch Mutationen im *MPL*-Gen verursacht, der zu einem Defekt des Thrombopoetin-Rezeptors führt. Im weiteren Verlauf des Krankheitsbildes kommt es häufig zur aplastischen Anämie und Panzytopenie (59).

2. Defekte der Transkriptionsfaktoren

Hämatopoetische Transkriptionsfaktoren regulieren die Differenzierung, Megakaryopoese und Thrombozytenproduktion. Mutationen in Genen, die für

hämatopoetische Transkriptionsfaktoren (*RUNX1*, *FLI1*, *GATA-1*, *GFI1B*- und *ETV6*) kodieren, führen zur einer Makrothrombozytopenie (60-62).

Mutationen im *RUNX1* (*AML1; core binding factor A*)-Gen werden autosomal-dominant vererbt und führen zu einer Thrombozytopenie und -pathie (gestörte α - und δ -Granula-Sekretion) (63). Es besteht eine vermehrte Prädisposition für das Myelodysplastische Syndrom (MDS) oder eine akute myeloische Leukämie (AML) (64).

Mutationen im *FLI1* (*friend leukemia virus integration 1*)-Gen (FLI1-Defekt) führen zum Paris-Trousseau-Syndrom und Jacobsen-Syndrom (siehe II 1.3.). FLI1 ist ein Transkriptionsfaktor, der eine wichtige Rolle bei der Megakaryozytendifferenzierung spielt. Dabei ist eine Reduktion der MYH10-Expression (myosin heavy chain 10 oder non-muscle myosin IIB) durch RUNX1 und FLI1 essentiell (65). Deshalb kann das Vorkommen der MYH10-Expression in Thrombozyten als Marker für FLI1- und RUNX1-Defekte eingesetzt werden (61).

Die GATA1-assoziierte Thrombozytopenie wird X-chromosomal vererbt. Mutationen im *GATA1* (*GATA binding protein-1*)-Gen sind ursächlich für Thrombozytopenien mit einer gestörten Erythropoese. Abhängig vom Grad der Beeinträchtigung der GATA1-Proteinfunktion zeigt sich eine große klinische Variabilität bzgl. der Ausprägung der Erkrankung (66).

ETV6 (EtS Variant 6; Syn: TEL), ein Mitglied der ETS (E26 Transformation spezifischen)-Familie, ist für die Regulation der Zellproliferation mitverantwortlich, indem es mit dem Transkriptionsfaktor RUNX1 fusioniert (67). Mutationen im *ETV6*-Gen führen zur autosomal-dominant vererbaren ETV6-Defizienz. Charakteristisch hierfür sind: eine milde bis moderate Thrombozytopenie mit Blutungsneigung, eine Makrozytose sowie ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Leukämie (pre-B-Zell ALL), eines myelodysplastischen Syndroms (MDS) oder solider Tumore.

VI Defekte der Membranphospholipide

	Strukturdefekt	Gen / Vererbungsmodus
1. Scott-Syndrom	Transmembrane protein 16F (TME16F)	TMEM16F / AR
2. Stormorken-Syndrom	Stromal interaction molecule 1 (STIM1)	STIM1 / AD

Tab. 6: Thrombozytäre Defekte der Membranphospholipide; AR, autosomal rezessiv; AD, autosomal dominant

1. Scott-Syndrom

Das autosomal-rezessiv vererbte Scott-Syndrom geht mit einer veränderten Prokoagulans-Aktivität und Thrombinbildung einher, erkennbar an aktivierten Thrombozyten, bei denen die Translokation von Phosphatidylserin (PS) von der inneren an die äußere Membran gestört ist. Die Präsentation von Aminophospholipiden an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten oder davon hergeleiteter Mikropartikel ist essentiell für die Bildung der in der Blutgerinnung wirksamen Enzymkomplexe. Ursächlich sind Mutationen im *TMEM16F*-Gen, das für das Transmembranprotein 16F

kodiert, ein Membranprotein, das mit Ionenkanalaktivität und dem Phospholipid Scramblase assoziiert ist. Scramblase transportiert Phospholipide Ca^{2+} -abhängig bidirektional. (68).

2. Stormorken-Syndrom

Das Stormorken-Syndrom wird durch autosomal dominante Mutationen im *STIM1*-Gen, das für den Haupt- Ca^{2+} -Sensor des Endoplasmatischen Retikulums kodiert, verursacht. Dies führt zu einem permanenten Ca^{2+} -Einstrom und einer vorzeitigen Thrombozytenaktivierung (69). Der Phänotyp dieser äußerst seltenen Erkrankung ist sehr komplex, die Patienten können an Blutungsstörungen mit Thrombozytopenie und/oder Thrombozytopathie, Myopathien (TAM, Tubular Aggregate Myopathy), Hyposplenismus, Hypokalziämie, Miosis und intellektuellen Störungen (Dyslexia) leiden (70).

Highlight 1: Heterozygote Varianten der Glanzmann-Gene *ITGA2B* und *ITGB3* führen zu dominanter Makrothrombozytopenie und vergrößerten α -Granula

Favier M, Bordet JC, Favier R, Gkalea V, Pillois X, Rameau P, Debili N, Alessi MC, Nurden P, Raslova H, Nurden A. Mutations of the integrin α IIb β 3 intracytoplasmic salt bridge cause macrothrombocytopenia and enlarged platelet α -granules. *Am J Hematol.* 2018; 93 (2): 195-204.

(71)

Hintergrund

GT wird durch homozygote oder compound heterozygote pathogene Varianten in den Genen *ITGA2B* oder *ITGB3* verursacht, welche zum Verlust oder zur Verringerung der α IIb β 3-Expression führen. Diese GT-verursachenden Mutationen treten meistens in der extrazellulären Domäne von Integrin auf („loss of function“ Mutationen).

Patienten mit autosomal rezessiv vererbter Glanzmann Thrombasthenie weisen meist eine normale Thrombozytenanzahl auf. Autosomal-dominante Makrothrombozytopenie (MTP) wurde bei heterozygoten Varianten in der proximalen Region der GT-Gene berichtet. Favier et al. beschreiben 3 Familien mit autosomal dominanter MTP und mildem bis moderatem Blutungsgeschehen.

Methodik

Thrombozytenaggregometrie, Durchflusszytometrie, Transmissionselektronenmikroskopie, genetische Analysen, Mutations-Screening, *in-vitro*-Megakaryozytendifferenzierung, Quantifizierung von Thrombozytenvorläufern, Immunofluoreszenzanalysen

Ergebnisse

Heterozygote Varianten führten bei zwei Familien zu einem Aminosäureaustausch in α IIb (p.R995W) und bei einer Familie in β 3 (p.D723H). Die Veränderungen betreffen die Salzbrücke zwischen den beiden Untereinheiten in der zytoplasmatischen Region und die sterische Interferenz (Abb.1).

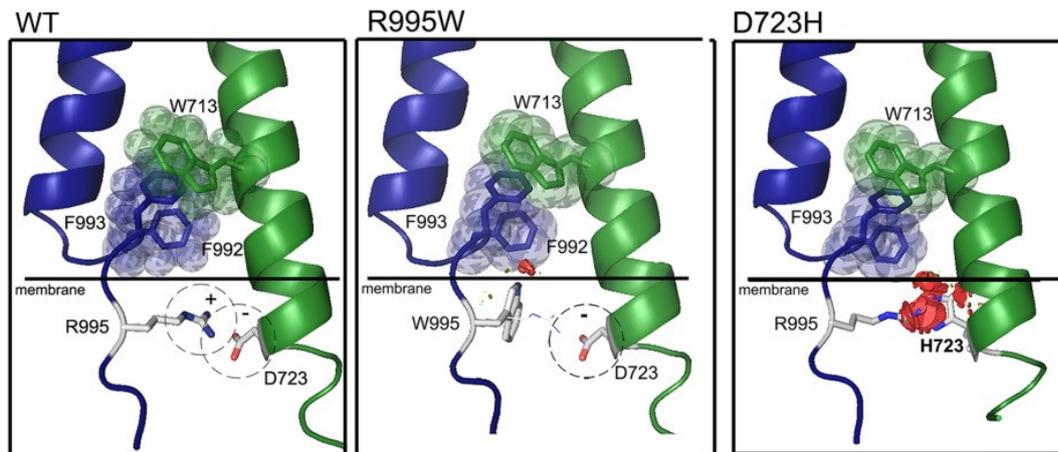


Abb.1: Die beiden Varianten R995W und D723H beeinflussen Wechselwirkungen zwischen den Transmembran- und Zytoplasmatischen Domänen (In Silico PyMOL-Modellierung blau α_{IIb} , grün β_3). Aus Favier et al. Mutations of the integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ intracytoplasmic salt bridge cause macrothrombocytopenia and enlarged platelet α -granules *Am J Hematol.* 2018;93:195–204. (71)

Indexpatienten (IP) aller drei Familien zeigten reduzierte Thrombozyten-Aggregometrie (nach Aktivierung mit ADP, TRAP, Arachidonsäure, Kollagen und Ristocetin) im Vergleich zur Kontrolle. In der Durchflusszytometrie wurde für alle betroffenen Patienten eine verminderte $\alpha_{IIb}\beta_3$ Oberflächenexpression festgestellt, interessanterweise waren die GPIIb-Werte für die Patienten und insbesondere für die Familien A und B über den Normalwerten (manchmal über 150% im Vgl. zur Kontrolle). Mittels Durchflusszytometrie an ruhenden Plättchen wurde die PAC1-Bindung als Aktivierungsmarker gemessen. Spontane PAC1-Bindung war für einen Patienten (All.1) geringfügig erhöht, nicht jedoch für die anderen Indexfälle. Die Bindung für All.1 stieg nach Thrombozytenaktivierung mit ADP und TRAP an, blieb jedoch im Vergleich zur Kontrolle niedrig.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung der Plättchen wies bei alle IP Makrothrombozyten nach, sowie eine erhöhte Anzahl von Vakuolen. Vor allem die IP aus den Familien mit der *ITGA2B* (R995W) Variante zeigten vergrößerte α -Granula, beim IP mit der *ITGB3* (D723H) Variante wurde weniger oft vergrößerte α -Granula nachgewiesen.

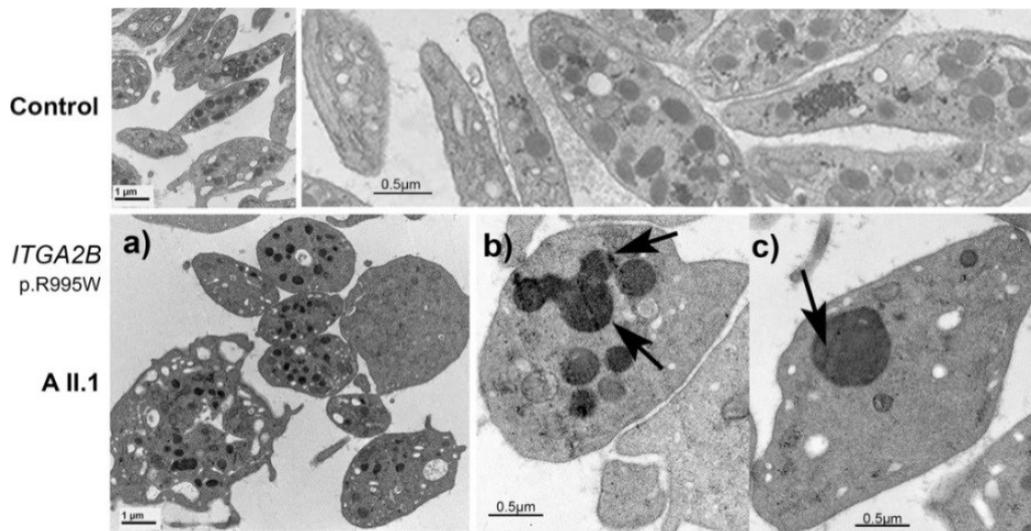


Abb. 2: Transmissionselektronenmikroskopie von Thrombozyten des Indexpatienten aus Familie A im Vergleich zur Kontrolle. Gezeigt sind für IP A II.1 (*ITGA2B*: R995W) vergrößerte Thrombozyten mit Heterogenität in der Granulaverteilung und gelegentlich vorhandenen riesigen α -Granula (b, c), die manchmal eine Fusion zu zeigen scheinen (siehe Pfeile in b). Aus Favier et al. Mutations of the integrin α_{IIb}/β_3 intracytoplasmic salt bridge cause macrothrombocytopenia and enlarged platelet α -granules *Am J Hematol.* 2018;93:195–204. (71)

Bedeutung für die klinische Praxis

Autosomal dominante Varianten in den GT-Kandidatengen führen zu Makrothrombozytopenie und Thrombozytopathie. Jede kongenitale Thrombozytopenie sollte korrekt charakterisiert werden, um Falschdiagnosen (z.B. Immunthrombozytopenie) und unnötige Kortikosteroid-Therapie zu vermeiden.

Highlight 2: Das Hermansky-Pudlak-Syndrom Typ 4 (HPS4)

Sandrock-Lang K, Bockelmann D, Eberl W, Schmitt-Kastner S, Zieger B. A novel nonsense mutation in a patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 4. *Blood Cells Mol Dis.* 2018; 69: 113-116.

(72)

Hintergrund

Typisch für das Hermansky-Pudlak-Syndrom (HPS) sind okulokutaner Albinismus (Störung der Melanosomen) und eine vermehrte Blutungsneigung (Thrombozytenpathie bedingt durch einen δ -Granula-Sekretionsdefekt). Ursächlich sind Mutationen in 10 Genen, die mit dem HPS assoziiert (HPS1-10) sind, daher werden derzeit 10 HPS-Subtypen unterschieden. HPS wird autosomal rezessiv vererbt. Typisch sind eine pathologische Sekretion der thrombozytären δ -Granula (deutlich erniedrigte CD63-Expression in der Durchflusszytometrie bzw. erniedrigte ATP-Freisetzung nach Stimulation in der Lumiaggregometrie) (73). Die *in-vivo* Blutungszeit ist verlängert (> 6 min). Einige Patienten mit HPS entwickeln im Verlauf eine Lungenfibrose oder eine granulomatöse Kolitis. Bei HPS2 und HPS10 besteht zusätzlich ein Immundefekt, bei HPS10 wurden auch neurologische Auffälligkeiten beschrieben (74).

Methodik

Lumiaggregometrie (Stimulation mit Kollagen, ADP, ATP, Epinephrin, Arachidonsäure, Ristocetin, Thrombin), durchflusszytometrische Messung der Expression von CD41a (Fibrinogenrezeptor GPIIb/IIIa = $\alpha_{IIb}\beta_3$), CD42b (VWF-Rezeptor, GPIIb) und CD62P (P-Selectin, α -Granula), molekulargenetische Analyse der HPS assoziierten Gene mittels Sanger Sequenzierung nach Isolierung der genomischen DNA aus EDTA-Blut

Ergebnisse

Ein 1-jähriger Junge zeigte typische klinische HPS-Symptome (Hämatome, Epistaxis, okulokutaner Albinismus, Nystagmus). Thrombozytenzahl und -größe waren normal. Die Werte für aPTT, Quick und Von Willebrand Faktor (VWF) waren normal. Thrombozytenfunktionsanalysen ergaben eine pathologisch gestörte Aggregation/Agglutination nach Stimulation mit Kollagen, ADP, Epinephrin, Arachidonsäure und Ristocetin (Tab. 7). Die thrombozytären Oberflächenmarker (CD41a, CD42b und CD62P) waren normal exprimiert. Eine gestörte thrombozytäre δ -Granula-Sekretion wurde anhand einer erniedrigten ATP-Freisetzung nach Stimulation (Lumiaggregometrie) festgestellt. Durch Sequenzierung des *HPS4* Gens wurde eine neue homozygote Nonsense Mutation in Exon 11 des *HPS4*-Gens (NM_022081): c.1318C > T, p. Gln440X identifiziert (Abb. 3).

Lumiaggregometry			
Stimulation	Max. aggregation/agglutination	Normal control	
Collagen	2%	70–95%	
ADP	65%	75–90%	
Epinephrine	25%	70–90%	
Arachidonic acid	0%	75–95%	
Ristocetin	74%	85–95%	

Lumiaggregometry			
Stimulation	Parameter	Value	Normal control
Thrombin (1 E/ml)	ATP	3.3 nmol/10 ⁹	13–40 nmol/10 ⁹
Collagen (2 µg/ml)	ATP	< 0.5 nmol/10 ⁹	> 7 nmol/10 ⁹

Tab. 7: Gestörte Agglutination/ Aggregation nach Stimulation mit unterschiedlichen Agonisten. Aus Sandrock-Lang et al. A novel nonsense mutation in a patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 4. Blood cells, molecules & diseases 2018; 69:113-16.

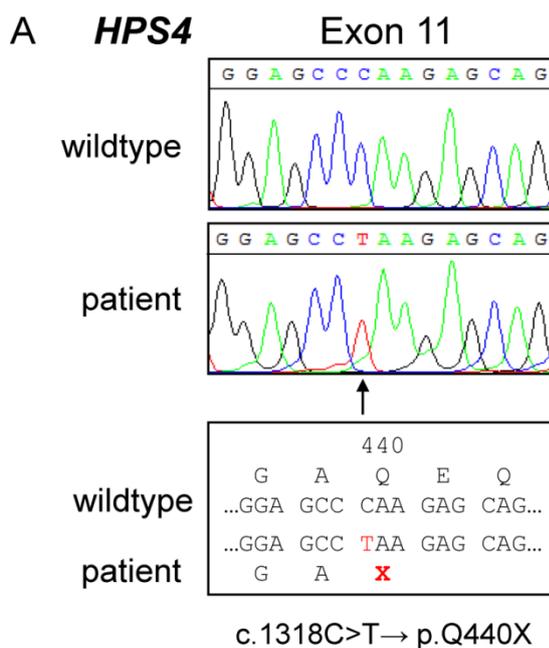


Abb. 3: Molekulargenetische Analyse des *HPS4*-Gens (Index-Patient). Homozygote nonsense Mutation im Exon 11 des *HPS4*-Gens (NM_022081): c.1318C>T→p.Gln440X. Aus: Sandrock-Lang et al. A novel nonsense mutation in a patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 4. Blood cells, molecules & diseases 2018; 69:113-16.

Bedeutung für die klinische Praxis

HPS Symptome können sehr stark variieren. Patienten mit HPS2 leiden zusätzlich meist an einem Immundefekt. Enders et al. beschrieben den ersten Patienten mit HPS2 (Mutation in Exon 8 des *HPS2*-Gens) der eine Hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH) entwickelte, die letztendlich letal verlief (75). Hingegen beschrieben Kurnik et al.

einen Patienten mit HPS2 (Mutation in Exon 27), der zwar eine pathologische thrombozytäre δ -Granula-Störung aufwies, jedoch keine auffällige T-Zell-vermittelte Zytotoxizität oder reduzierte T-Zell-Degranulation zeigte (76). Vermutlich ist dieser milde Phänotyp auf die sehr weit C-terminal liegende Lokalisation der *HPS2*-Mutation zurückzuführen. Laborchemisch können Patienten mit HPS2 mittels Durchflusszytometrie der Thrombozyten frühzeitig erkannt werden: im Unterschied zu anderen HPS-Patienten ist auf den ruhenden Thrombozyten schon zu Beginn die Sekretion der δ -Granula (CD63-Expression) erhöht und nach Thrombinaktivierung nur noch sehr wenig stimulierbar.

Für HPS9 (*BLOC1S6*-Gen) und HPS10 (*AP3D1*-Gen) sind nur wenige Fallbeschreibungen publiziert. Bei einem Patienten mit HPS10 stand weniger eine Blutungsneigung als vielmehr der okulokutane Albinismus, ein Immundefekt und ein Krampfleiden im Vordergrund (77, 78).

Highlight 3: Nutzen und Einschränkungen von Exom-Sequenzierung bei angeborener Thrombozytopathie/-penie

Romasko EJ, Devkota B, Biswas S, Jayaraman V, Rajagopalan R, Dulik MC, Thom CS, Choi J, Jairam S, Scarano MI, Krantz ID, Spinner NB, Conlin LK, Lambert MP. Utility and limitations of exome sequencing in the molecular diagnosis of pediatric inherited platelet disorders. *Am J Hematol.* 2018; 93 (1): 8-16.

(79)

Hintergrund

Die komplexen und heterogenen Ursachen der angeborenen Thrombozytopathien/-penien (IPDs) erschwert die Diagnostik. Mittels Exom-Sequenzierung (ES) wurden 21 Patienten molekulargenetisch untersucht, bei denen mit Hilfe von Standarddiagnostikverfahren (Aggregometrie, Licht- und Elektronenmikroskopie, Durchflusszytometrie und z.T. auch molekulargenetische Untersuchung) die Verdachtsdiagnose IPD gestellt worden war.

Methodik

ES mit Agilent SureSelect Whole Exome Kit auf einem HiSeq 2500 (Illumina). Die Varianten wurden nach Qualitätskriterien und Allelfrequenz in ExAC (>0,5% MAF) und in einer internen Kohorte (>5% MAF) gefiltert und die übrigen mittels ANNOVAR annotiert (Variantentyp). Anschließend wurden die verbleibenden Varianten mit Hilfe einer IPD-Genliste gefiltert (53 Gene, Supporting Information Table S2) und gemäß der ACMG (American College of Medical Genetics) Guidelines interpretiert. Zur Einordnung der Pathogenität wurde die Evaluierung der Frequenz in Populations-Datenbanken (ExAC, dbSNP, 1000G), die Listung in HGMD und ClinVar und *in silico*-Angaben über Konservierung, Splice-Effekte oder Lokalisierung in funktionellen Proteindomänen herangezogen. Es erfolgte eine Validierung bestimmter Varianten für Indexpatienten und Familienangehörige mittels Sanger Sequenzierung. Alle Varianten in IPD-Genen und ihre Pathogenitätsklassifizierung wurde in ClinVar hinterlegt (Organization ID: 505472).

Für 16 Patienten, bei denen keine molekulargenetische Diagnose nach Filtern der ES-Varianten mittels IPD-Genliste gestellt werden konnte, wurde erneut eine Analyse zur Erfassung von IPD-Kandidatenvarianten durchgeführt. Hierzu wurden seltene (<0,5% MAF) heterozygote, homozygote und potentiell compound heterozygote nicht-synonym kodierende Varianten bei den 16 Patienten gegen seltenen Varianten bei 197 Kontrollfällen gefiltert. 3122 Varianten in 2613 Genen blieben übrig, die dem erwarteten Vererbungsmodus basierend auf Familiendaten entsprachen. Durch Abgleich mit Daten aus Transkriptom- und Proteomics-Datensätzen (PlateletWeb) wurden diese verbliebenen Varianten eingeschränkt auf Gene, deren Expression in der Thrombozyten-Biologie und IPD-Ätiologie eine Rolle spielen.

Ergebnisse

Mittels Agilent SureSelect v4 Capture Kit konnten 808 von 873 Exonen der 53 IPD-Gene erfasst werden, davon wurden 77,6% vollständig abgedeckt. Die schlecht abgedeckte 5' UTR des *ANKRD26*-Gens wurde mittel Sanger nachsequenziert.

Im Patientenkollektiv wurden 49 seltene Varianten in 23 IPD-Genen identifiziert, davon eine pathogene Variante in *MYH9* und 6 „likely pathogenic“ in den Genen *CD36*, *RASGRP2*, *RUNX1*, *GP9* und *RAB27A*. 18 Varianten wurden als Varianten unsicherer Signifikanz (VUS) klassifiziert. Bei 6 Patienten konnte keine potentiell krankheitsassoziierte Variante identifiziert werden (Tab.8).

Variable	Count (%)
Patients	21
Rare IPD variants	49
Variant pathogenicity classification	
Benign	7 (14.3)
Likely benign	17 (34.7)
VUS	18 (36.7)
Likely pathogenic	6 (12.2)
Pathogenic	1 (2.0)
Average number of variants per patient	2.3
Variants per patient [range]	[0 - 7]
Number of patients without uncertain/pathogenic variants	6 (28.6)

Tab. 8: Exom-Sequenzierung: Zusammenstellung und Klassifizierung seltener Varianten. ES, exome sequencing; IPD, inherited platelet disorder; VUS, variant of uncertain significance. Aus Romasko et al. Utility and limitations of exome sequencing in the molecular diagnosis of pediatric inherited platelet disorders. *Am J Hematol.* 2018;93:8–16.

Die 7 krankheitsrelevanten Varianten („likely pathogenic“ und „pathogenic“) lagen bei 5 Patienten vor (autosomal rezessiv für *RASGRP2*, *CD36* und *GP9* und autosomal dominant für *MYH9* und *RUNX1*). Die molekulargenetische Diagnose wurde bei 23,8% des Patientenkollektivs gestellt (Abb.4)

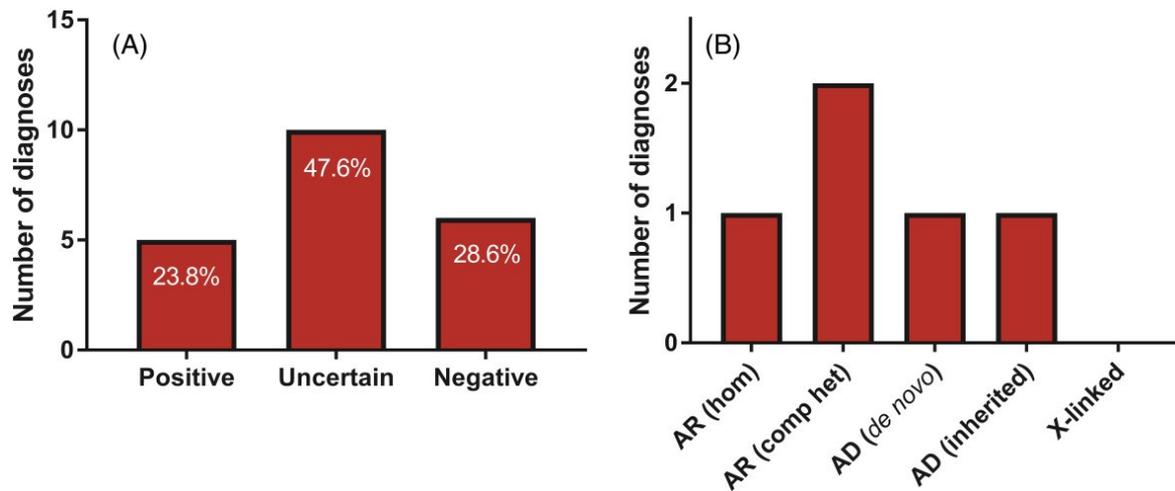


Abb. 4: Diagnostik nach ES in der IPD-Kohorte und Art der Vererbung. (A) Prozentsatz jedes Diagnosetyps an der gesamten IPD-Kohorte (n = 21 Pat.). Negativ bedeutet: keine krankheitsverursachenden Varianten oder nur wahrscheinlich gutartige bzw. nur gutartige Varianten; Unsicher repräsentiert: Varianten mit unsicherer Bedeutung (VUS); Positiv steht für pathogene oder wahrscheinlich pathogene Varianten, die mit dem Vererbungsmuster von Krankheiten übereinstimmen. (B) Vererbungsmechanismus bei Patienten mit positiver molekularer Diagnose (n = 5 Pat.). AD autosomal dominant; AR autosomal rezessiv; Hom, homozygot; Comp het, compound heterozygot. Aus Romasko et al. Utility and limitations of exome sequencing in the molecular diagnosis of pediatric inherited platelet disorders. *Am J Hematol.* 2018;93:8–16

Diese erfolgreiche Diagnostikrate (23.8%) liegt im Bereich der bisher veröffentlichten Zahlen (10,5%-45,9%) für Exom- und Genpanel-Analysen bei IPDs. Bei 16 Patienten, bei denen keine molekulargenetische Diagnose nach Filtern der ES-Varianten mittels IPD-Genliste gestellt werden konnte, wurde eine Nachbearbeitung der gesamten ES-Daten mittels Filtern gegen seltene Varianten bei einem Kontrollkollektiv vorgenommen. Im weiteren Verlauf wurden seltene Varianten, die nur bei den Patienten mehrfach vorkamen, weiter analysiert und sind noch in Bearbeitung.

Bedeutung für die klinische Praxis

IPD-Panelsequenzierung ermöglicht bei einigen, jedoch nicht bei allen Patienten eine molekulargenetische Diagnose. ES ermöglicht - im Gegensatz zur Panelsequenzierung alleine - über eine Nachbearbeitung die Identifizierung neuer Kandidatengene.

Die zahlreichen Varianten mit unklarer Bedeutung (VUS) schaffen Ungewissheit für Kliniker, Patienten und Familien. Daher benötigen VUS eine weitere klinische Korrelation und fortlaufende Reanalyse der Daten.

Literatur

1. Streif W, Oliveri M, Weickardt S, Eberl W, Knoefler R, Thromkid Study Group of GTH. Testing for inherited platelet defects in clinical laboratories in Germany, Austria and Switzerland. Results of a survey carried out by the Permanent Paediatric Group of the German Thrombosis and Haemostasis Research Society (GTH). *Platelets*. 2010;21(6):470-8.
2. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962 Jun 9;194:927-9.
3. Greinacher A, Pecci A, Kunishima S, Althaus K, Nurden P, Balduini CL, et al. Diagnosis of inherited platelet disorders on a blood smear: a tool to facilitate worldwide diagnosis of platelet disorders. *J Thromb Haemost*. 2017 Jul;15(7):1511-21.
4. Bernard J, Soulier JP. [Not Available]. La semaine des hopitaux : organe fonde par l'Association d'enseignement medical des hopitaux de Paris. 1948 Dec 28;24(Spec. No.):3217-23.
5. Savoia A, Pastore A, De Rocco D, Civaschi E, Di Stazio M, Bottega R, et al. Clinical and genetic aspects of Bernard-Soulier syndrome: searching for genotype/phenotype correlations. *Haematologica*. 2011 Mar;96(3):417-23.
6. Salles II, Feys HB, Iserbyt BF, De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Inherited traits affecting platelet function. *Blood reviews*. 2008 May;22(3):155-72.
7. Gengenbacher D, Tsakiris DA, Tichelli A, Marbet GA, Gratwohl A, Speck B. [Bernard-Soulier thrombocytopenia: clinical significance of a rare disorder]. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 1996 Oct 26;126(43):1834-41.
8. Savoia A, Kunishima S, De Rocco D, Zieger B, Rand ML, Pujol-Moix N, et al. Spectrum of the mutations in Bernard-Soulier syndrome. *Human mutation*. 2014 Sep;35(9):1033-45.
9. Kanda K, Kunishima S, Sato A, Abe D, Nishijima S, Ishigami T. A Brazilian case of Bernard-Soulier syndrome with two distinct founder mutations. *Hum Genome Var*. 2017;4:17030.
10. Boeckelmann D, Hengartner H, Greinacher A, Nowak-Gottl U, Sachs UJ, Peter K, et al. Patients with Bernard-Soulier syndrome and different severity of the bleeding phenotype. *Blood Cells Mol Dis*. 2017 Sep;67:69-74.
11. Miller JL, Kupinski JM, Castella A, Ruggeri ZM. von Willebrand factor binds to platelets and induces aggregation in platelet-type but not type IIB von Willebrand disease. *The Journal of clinical investigation*. 1983 Nov;72(5):1532-42.
12. Loroch S, Trabold K, Gambaryan S, Reiss C, Schwierczek K, Fleming I, et al. Alterations of the platelet proteome in type I Glanzmann thrombasthenia caused by different homozygous delG frameshift mutations in ITGA2B. *Thromb Haemost*. 2017 Feb 28;117(3):556-69.
13. Dumont B, Lasne D, Rothschild C, Bouabdelli M, Ollivier V, Oudin C, et al. Absence of collagen-induced platelet activation caused by compound heterozygous GPVI mutations. *Blood*. 2009 Aug 27;114(9):1900-3.
14. Duvernay MT, Temple KJ, Maeng JG, Blobaum AL, Stauffer SR, Lindsley CW, et al. Contributions of Protease-Activated Receptors PAR1 and PAR4 to Thrombin-Induced GPIIb/IIIa Activation in Human Platelets. *Mol Pharmacol*. 2017 Jan;91(1):39-47.
15. Hechler B, Gachet C. P2 receptors and platelet function. *Purinergic signalling*. 2011 Sep;7(3):293-303.
16. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature*. 2001 Jan 11;409(6817):202-7.
17. Abbracchio MP, Burnstock G, Boeynaems JM, Barnard EA, Boyer JL, Kennedy C, et al. International Union of Pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacological reviews*. 2006 Sep;58(3):281-341.
18. Lecchi A, Razzari C, Paoletta S, Dupuis A, Nakamura L, Ohlmann P, et al. Identification of a new dysfunctional platelet P2Y12 receptor variant associated with bleeding diathesis. *Blood*. 2015 Feb 5;125(6):1006-13.

Angeborene Thrombozytopenie/pathie – Barbara Zieger

19. Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*. 2008;13:3532-48.
20. Nurden P, Nurden AT. Congenital disorders associated with platelet dysfunctions. *Thromb Haemost*. 2008 Feb;99(2):253-63.
21. Guerrero JA, Bennett C, van der Weyden L, McKinney H, Chin M, Nurden P, et al. Gray platelet syndrome: proinflammatory megakaryocytes and alpha-granule loss cause myelofibrosis and confer metastasis resistance in mice. *Blood*. 2014 Dec 4;124(24):3624-35.
22. Rensing-Ehl A, Pannicke U, Zimmermann SY, Lorenz MR, Neven B, Fuchs I, et al. Gray platelet syndrome can mimic autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood*. 2015 Oct 15;126(16):1967-9.
23. Kahr WH, Hinckley J, Li L, Schwertz H, Christensen H, Rowley JW, et al. Mutations in NBEAL2, encoding a BEACH protein, cause gray platelet syndrome. *Nature genetics*. 2011 Aug;43(8):738-40.
24. Lo RW, Li L, Leung R, Pluthero FG, Kahr WHA. NBEAL2 (Neurobeachin-Like 2) Is Required for Retention of Cargo Proteins by alpha-Granules During Their Production by Megakaryocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018 Oct;38(10):2435-47.
25. Pluthero FG, Di Paola J, Carcao MD, Kahr WHA. NBEAL2 mutations and bleeding in patients with gray platelet syndrome. *Platelets*. 2018 Sep;29(6):632-5.
26. Monteferrario D, Bolar NA, Marneth AE, Hebeda KM, Bergevoet SM, Veenstra H, et al. A dominant-negative GFI1B mutation in the gray platelet syndrome. *The New England journal of medicine*. 2014 Jan 16;370(3):245-53.
27. Urban D, Li L, Christensen H, Pluthero FG, Chen SZ, Puhacz M, et al. The VPS33B-binding protein VPS16B is required in megakaryocyte and platelet alpha-granule biogenesis. *Blood*. 2012 Dec 13;120(25):5032-40.
28. Smith H, Galmes R, Gogolina E, Straatman-Iwanowska A, Reay K, Banushi B, et al. Associations among genotype, clinical phenotype, and intracellular localization of trafficking proteins in ARC syndrome. *Human mutation*. 2012 Dec;33(12):1656-64.
29. Gresele P, Falcinelli E, Bury L. Inherited platelet function disorders. Diagnostic approach and management. *Hamostaseologie*. 2016 Nov 7;36(4):265-78.
30. Stockley J, Morgan NV, Bem D, Lowe GC, Lordkipanidze M, Dawood B, et al. Enrichment of FLI1 and RUNX1 mutations in families with excessive bleeding and platelet dense granule secretion defects. *Blood*. 2013 Dec 12;122(25):4090-3.
31. Paterson AD, Rommens JM, Bharaj B, Blavignac J, Wong I, Diamandis M, et al. Persons with Quebec platelet disorder have a tandem duplication of PLAU, the urokinase plasminogen activator gene. *Blood*. 2010 Feb 11;115(6):1264-6.
32. Barbosa MD, Nguyen QA, Tchernev VT, Ashley JA, Detter JC, Blaydes SM, et al. Identification of the homologous beige and Chediak-Higashi syndrome genes. *Nature*. 1996 Jul 18;382(6588):262-5.
33. Toro C, Nicoli ER, Malicdan MC, Adams DR, Introne WJ. Chediak-Higashi Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., eds. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA), 1993.
34. Menasche G, Pastural E, Feldmann J, Certain S, Ersoy F, Dupuis S, et al. Mutations in RAB27A cause Griscelli syndrome associated with haemophagocytic syndrome. *Nature genetics*. 2000 Jun;25(2):173-6.
35. Fletcher SJ, Johnson B, Lowe GC, Bem D, Drake S, Lordkipanidze M, et al. SLFN14 mutations underlie thrombocytopenia with excessive bleeding and platelet secretion defects. *The Journal of clinical investigation*. 2015 Sep;125(9):3600-5.
36. Marconi C, Di Buduo CA, Barozzi S, Palombo F, Pardini S, Zaninetti C, et al. SLFN14-related thrombocytopenia: identification within a large series of patients with inherited thrombocytopenia. *Thromb Haemost*. 2016 May 2;115(5):1076-9.
37. Pachlopnik Schmid J, Cote M, Menager MM, Burgess A, Nehme N, Menasche G, et al. Inherited defects in lymphocyte cytotoxic activity. *Immunological reviews*. 2010 May;235(1):10-23.
38. Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, Bhawan S, Certain S, Mathew PA, et al. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science*. 1999 Dec 3;286(5446):1957-9.

Angeborene Thrombozytopenie/pathie – Barbara Zieger

39. Feldmann J, Callebaut I, Raposo G, Certain S, Bacq D, Dumont C, et al. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). *Cell*. 2003 Nov 14;115(4):461-73.
40. Sandrock K, Nakamura L, Vraetz T, Beutel K, Ehl S, Zieger B. Platelet secretion defect in patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL-5). *Blood*. 2010 Dec 23;116(26):6148-50.
41. Turro E, Greene D, Wijgaerts A, Thys C, Lentaigne C, Bariana TK, et al. A dominant gain-of-function mutation in universal tyrosine kinase SRC causes thrombocytopenia, myelofibrosis, bleeding, and bone pathologies. *Science translational medicine*. 2016 Mar 2;8(328):328ra30.
42. Adler DH, Cogan JD, Phillips JA, 3rd, Schnetz-Boutaud N, Milne GL, Iverson T, et al. Inherited human cPLA(2alpha) deficiency is associated with impaired eicosanoid biosynthesis, small intestinal ulceration, and platelet dysfunction. *The Journal of clinical investigation*. 2008 Jun;118(6):2121-31.
43. Defreyn G, Machin SJ, Carreras LO, Dauden MV, Chamone DA, Vermynen J. Familial bleeding tendency with partial platelet thromboxane synthetase deficiency: reorientation of cyclic endoperoxide metabolism. *British journal of haematology*. 1981 Sep;49(1):29-41.
44. Dube JN, Drouin J, Aminian M, Plant MH, Laneuville O. Characterization of a partial prostaglandin endoperoxide H synthase-1 deficiency in a patient with a bleeding disorder. *British journal of haematology*. 2001 Jun;113(4):878-85.
45. Mory A, Feigelson SW, Yarali N, Kilic SS, Bayhan GI, Gershoni-Baruch R, et al. Kindlin-3: a new gene involved in the pathogenesis of LAD-III. *Blood*. 2008 Sep 15;112(6):2591.
46. Lova P, Paganini S, Hirsch E, Barberis L, Wymann M, Sinigaglia F, et al. A selective role for phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in the Gi-dependent activation of platelet Rap1B. *The Journal of biological chemistry*. 2003 Jan 3;278(1):131-8.
47. Canault M, Ghalloussi D, Grosdidier C, Guinier M, Perret C, Chelghoum N, et al. Human CalDAG-GEFI gene (RASGRP2) mutation affects platelet function and causes severe bleeding. *JExpMed*. 2014 6/30/2014;211(7):1349-62.
48. Lozano ML, Cook A, Bastida JM, Paul DS, Irwin G, Cid AR, et al. Novel mutations in RASGRP2, which encodes CalDAG-GEFI, abrogate Rap1 activation, causing platelet dysfunction. *Blood*. 2016 Sep 1;128(9):1282-9.
49. Sevivas T, Bastida JM, Paul DS, Caparros E, Palma-Barqueros V, Coucelo M, et al. Identification of two novel mutations in RASGRP2 affecting platelet CalDAG-GEFI expression and function in patients with bleeding diathesis. *Platelets*. 2018 Mar;29(2):192-5.
50. Kelley MJ, Jawien W, Ortel TL, Korczak JF. Mutation of MYH9, encoding non-muscle myosin heavy chain A, in May-Hegglin anomaly. *Nature genetics*. 2000 Sep;26(1):106-8.
51. Kunishima S, Matsushita T, Kojima T, Sako M, Kimura F, Jo EK, et al. Immunofluorescence analysis of neutrophil nonmuscle myosin heavy chain-A in MYH9 disorders: association of subcellular localization with MYH9 mutations. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2003 Jan;83(1):115-22.
52. Binder V, Albert MH, Kabus M, Bertone M, Meindl A, Belohradsky BH. The genotype of the original Wiskott phenotype. *The New England journal of medicine*. 2006 Oct 26;355(17):1790-3.
53. Sabri S, Foudi A, Boukour S, Franc B, Charrier S, Jandrot-Perrus M, et al. Deficiency in the Wiskott-Aldrich protein induces premature proplatelet formation and platelet production in the bone marrow compartment. *Blood*. 2006 Jul 1;108(1):134-40.
54. Levin C, Koren A, Pretorius E, Rosenberg N, Shenkman B, Hauschner H, et al. Deleterious mutation in the FYB gene is associated with congenital autosomal recessive small-platelet thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*. 2015 Jul;13(7):1285-92.
55. Berrou E, Adam F, Lebreton M, Fergelot P, Kauskot A, Coupry I, et al. Heterogeneity of platelet functional alterations in patients with filamin A mutations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Jan;33(1):e11-8.

Angeborene Thrombozytopenie/pathie – Barbara Zieger

56. Manchev VT, Hilpert M, Berrou E, Elaib Z, Aouba A, Boukour S, et al. A new form of macrothrombocytopenia induced by a germ-line mutation in the PRKACG gene. *Blood*. 2014 Oct 16;124(16):2554-63.
57. Kunishima S, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Muramatsu H, et al. ACTN1 mutations cause congenital macrothrombocytopenia. *Am J Hum Genet*. 2013 Mar 7;92(3):431-8.
58. Boutroux H, David B, Gueguen P, Frange P, Vincenot A, Leverger G, et al. ACTN1-related Macrothrombocytopenia: A Novel Entity in the Progressing Field of Pediatric Thrombocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017 Nov;39(8):e515-e8.
59. Ghauri RI, Naveed M, Mannan J. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenic purpura (CAMT). *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan : JCPSP*. 2014 Apr;24(4):285-7.
60. Balduini CL, Melazzini F. Research at the heart of hematology: thrombocytopenias and platelet function disorders. *Haematologica*. 2017 Feb;102(2):203-5.
61. Daly ME. Transcription factor defects causing platelet disorders. *Blood reviews*. 2017 Jan;31(1):1-10.
62. Songdej N, Rao AK. Hematopoietic transcription factor mutations: important players in inherited platelet defects. *Blood*. 2017 May 25;129(21):2873-81.
63. Jalagadugula G, Goldfinger LE, Mao G, Lambert MP, Rao AK. Defective RAB1B-related megakaryocytic ER-to-Golgi transport in RUNX1 haploinsufficiency: impact on von Willebrand factor. *Blood Adv*. 2018 Apr 10;2(7):797-806.
64. Bluteau D, Balduini A, Balayn N, Currao M, Nurden P, Deswarte C, et al. Thrombocytopenia-associated mutations in the ANKRD26 regulatory region induce MAPK hyperactivation. *The Journal of clinical investigation*. 2014 Feb;124(2):580-91.
65. Lordier L, Bluteau D, Jalil A, Legrand C, Pan J, Rameau P, et al. RUNX1-induced silencing of non-muscle myosin heavy chain IIB contributes to megakaryocyte polyploidization. *Nature communications*. 2012 Mar 06;3:717.
66. Hughan SC, Senis Y, Best D, Thomas A, Frampton J, Vyas P, et al. Selective impairment of platelet activation to collagen in the absence of GATA1. *Blood*. 2005 Jun 1;105(11):4369-76.
67. Poggi M, Canault M, Favier M, Turro E, Saultier P, Ghalloussi D, et al. Germline variants in ETV6 underlie reduced platelet formation, platelet dysfunction and increased levels of circulating CD34+ progenitors. *Haematologica*. 2017 Feb;102(2):282-94.
68. Munnix IC, Harmsma M, Giddings JC, Collins PW, Feijge MA, Comfurius P, et al. Store-mediated calcium entry in the regulation of phosphatidylserine exposure in blood cells from Scott patients. *Thromb Haemost*. 2003 Apr;89(4):687-95.
69. Misceo D, Holmgren A, Louch WE, Holme PA, Mizobuchi M, Morales RJ, et al. A dominant STIM1 mutation causes Stormorken syndrome. *Human mutation*. 2014 May;35(5):556-64.
70. Borsani O, Piga D, Costa S, Govoni A, Magri F, Artoni A, et al. Stormorken Syndrome Caused by a p.R304W STIM1 Mutation: The First Italian Patient and a Review of the Literature. *Front Neurol*. 2018;9:859.
71. Favier M, Bordet JC, Favier R, Gkalea V, Pillois X, Rameau P, et al. Mutations of the integrin alphaIIb/beta3 intracytoplasmic salt bridge cause macrothrombocytopenia and enlarged platelet alpha-granules. *American journal of hematology*. 2018 Feb;93(2):195-204.
72. Sandrock-Lang K, Bockelmann D, Eberl W, Schmitt-Kastner S, Zieger B. A novel nonsense mutation in a patient with Hermansky-Pudlak syndrome type 4. *Blood Cells Mol Dis*. 2018 Mar;69:113-6.
73. Berz F, Weiss M, Belohradsky BH. [Albinism, thrombopathy, ceroid storage disease--Hermansky-Pudlak syndrome. Overview and description with immunodeficiency]. *Klinische Padiatrie*. 1996 Mar-Apr;208(2):83-7.
74. Huizing M, Helip-Wooley A, Westbroek W, Gunay-Aygun M, Gahl WA. Disorders of lysosome-related organelle biogenesis: clinical and molecular genetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2008;9:359-86.
75. Enders A, Zieger B, Schwarz K, Yoshimi A, Speckmann C, Knoepfle EM, et al. Lethal hemophagocytic lymphohistiocytosis in Hermansky-Pudlak syndrome type II. *Blood*. 2006 Jul 1;108(1):81-7.

Angeborene Thrombozytopenie/pathie – Barbara Zieger

76. Kurnik K, Bartsch I, Maul-Pavicic A, Ehl S, Sandrock-Lang K, Bidlingmaier C, et al. Novel mutation in Hermansky-Pudlak syndrome type 2 with mild immunological phenotype. *Platelets*. 2013;24(7):538-43.
77. Ammann S, Schulz A, Krageloh-Mann I, Dieckmann NM, Niethammer K, Fuchs S, et al. Mutations in AP3D1 associated with immunodeficiency and seizures define a new type of Hermansky-Pudlak syndrome. *Blood*. 2016 Feb 25;127(8):997-1006.
78. Badolato R, Prandini A, Caracciolo S, Colombo F, Tabellini G, Giacomelli M, et al. Exome sequencing reveals a pallidin mutation in a Hermansky-Pudlak-like primary immunodeficiency syndrome. *Blood*. 2012 Mar 29;119(13):3185-7.
79. Romasko EJ, Devkota B, Biswas S, Jayaraman V, Rajagopalan R, Dulik MC, et al. Utility and limitations of exome sequencing in the molecular diagnosis of pediatric inherited platelet disorders. *American journal of hematology*. 2018 Jan;93(1):8-16.

Medikamentös bedingte Thrombozytenfunktionsstörungen

PD Dr. Thomas Thiele

Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin

Universitätsmedizin Greifswald

E-Mail: thielet@uni-greifswald.de

State of the Art	3
Highlight 1: Thrombozytentransfusion bei intrazerebraler Blutung	6
Highlight 2: Tranexamsäure bei spontanen intrazerebralen Blutungen	8
Literatur	11

State of the Art

Einführung

Thrombozytenaggregationshemmer reduzieren das Risiko koronarer, zerebraler sowie peripher arterieller Verschlüsse (1-5). Orale Thrombozytenaggregationshemmer umfassen die irreversiblen Inhibitoren Acetylsalizylsäure, Ticlopidin, Clopidogrel, Prasugrel sowie die reversiblen Hemmer Ticagrelor und Voraxapar. Alle Medikamente variieren in ihrem Wirkmechanismus und in ihrer Halbwertszeit. Neben den Medikamenten, die zur Plättchenhemmung eingesetzt werden, gibt es zahlreiche weitere Medikamente mit thrombozyten-hemmender Wirkung wie z.B. NSIADs, Antikonvulsiva oder selektive Serotoninwiederaufnahmehemmer.

Patienten mit medikamentös bedingten Thrombozytenfunktionsstörungen haben neben der Blutungsneigung auch ein arterielles Thromboserisiko, insbesondere kurz nach endovaskulärer Stentimplantation (6). Jede Notfalltherapie muss sich daher am Blutungsrisiko und am arteriellen Verschlussrisiko betroffener Patienten und am pharmakologischen Profil der Plättchenhemmer orientieren.

Blutungsrisiko von Patienten mit Thrombozytenaggregationshemmern

Die Einnahme von ASS erhöht das Blutungsrisiko nach neueren Schätzungen etwa um das 1,4fache (7) gegenüber der Nichteinnahme, wobei arterielle Verschlüsse in der Anamnese oder ein höheres Alter das Risiko beträchtlich erhöhen (8). Durch Kombination mit einem ADP-Rezeptorantagonisten steigt das Blutungsrisiko noch einmal um etwa das Doppelte (9).

In Tabelle 1 sind die häufigsten Blutungskomplikationen unter Thrombozytenaggregationshemmern zusammengefasst.

Lokalisation	Anteil (%)
gastrointestinal	42 %
intrakraniell	39 %
andere äußere Blutungen	13 %
Muskeleinblutungen	4 %
andere innere Blutungen	9 %

Tab. 1: Blutungskomplikationen unter Thrombozytenaggregationshemmern. Aus: (10).

Perioperativ erhöht sich das Blutungsrisiko. Unter ASS-Einnahme in der POISE-2 Studie stieg der Anteil an Blutungen absolut von 3,8% auf 4,6% (11). Die zusätzliche Einnahme von Clopidogrel verdoppelt das Blutungsrisiko (12).

Pathogenese perioperativer Herzinfarkte und Schlaganfälle

Perioperative Herzinfarkte und Schlaganfälle werden häufig in einem kombinierten Endpunkt erfasst. Dabei steht MACE für *major adverse cardiac event* und MACCE für *major adverse cardiac and cerebrovascular event*.

Beide Endpunkte unterscheiden nicht zwischen der Genese des kardialen Ereignisses. Dabei ist es ein Unterschied, ob es sich um eine Stentthrombose handelt („Typ 4b myocardial infarction“), oder ob es wegen einer perioperativen Kreislaufdepression zu einem Herzversagen infolge eines verringerten koronaren Sauerstoffangebotes kommt (sogenanntes „Supply/Demand-Mismatch“ oder „Typ 2 myocardial infarction“ (13)). Die Stentthrombose wird v.a. durch eine unzureichende Thrombozytenaggregationshemmung verursacht. Ein Supply-Demand-Mismatch kann z.B. durch eine starke Blutung entstehen, welche durch eine zu intensive Thrombozytenaggregationshemmung aggraviert wird (14). Eine Studie zur Ätiologie perioperativer Herzinfarkte zeigte, dass über 70% auf ein Supply/Demand Mismatch zurückzuführen sind (15).

Risikofaktoren für perioperative MACCE/MACE bei Stentpatienten

Folgende Risikofaktoren werden genutzt, um präoperativ zwischen einem hohen, mittleren und geringen MACCE-Risiko zu unterscheiden. Eine entsprechende Stratifizierung wurde vom ISTH-SSC „Perioperative Hemostasis“ vorgeschlagen (Tabelle 2).

Anamnese	Hohes Risiko >10%/Jahr	Moderates Risiko 5-10%/Jahr	Niedriges Risiko <5%/Jahr
Drug Eluting Stent	<12 Monate	12-24 Monate	>24 Monate
Bare Metal Stent	<3 Monate	3-12 Monate	>12 Monate
Myokardinfarkt	<3 Monate	>3 Monate	nein
CHADS₂-Score	5-6	2-4	0-1
Stentthrombose	ja	nein	nein
Primärprophylaxe	nein	nein	Ja

Tab. 2: perioperatives MACCE-Risiko. Aus: (6).

Prohämostatische Therapie in Notfällen

Eine prohämostatische Therapie verfolgt das Ziel, den medikamentös bedingten Funktionsverlust der Thrombozyten auszugleichen bzw. die Hämostase an anderer Stelle der Gerinnungskaskade zu verstärken. Folgende Optionen bestehen:

Thrombozytentransfusionen

Thrombozyten verbessern die Hämostase nach ASS-Einnahme und etwas weniger effektiv nach Einnahme von Clopidogrel (16) und Prasugrel (17). Keine Verbesserung ist möglich kurz nach der letzten Einnahme von Ticagrelor (18-20). Die Evidenz zum therapeutischen Nutzen transfundierter Thrombozyten bei Blutungskomplikationen ist unklar.

Highlight 1: Thrombozytentransfusion bei intrazerebraler Blutung.

Baharoglu MI, Cordonnier C, Al-Shahi Salman R, de Gans K, Koopman MM, Brand A, Majoie CB, Beenen LF, Marquering HA, Vermeulen M, Nederkoorn PJ, de Haan RJ, Roos YB, Patch Investigators Platelet transfusion versus standard care after acute stroke due to spontaneous cerebral haemorrhage associated with antiplatelet therapy (PATCH): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2016; 387 (10038): 2605-2613.

(21)

Hintergrund

Die Patch-Studie ist eine internationale Multicenter-Studie, die in den Niederlanden, in Frankreich und im Vereinigten Königreich durchgeführt wurde. Das Ziel der Studie bestand darin, einen Vorteil von Thrombozytenkonzentraten in der Behandlung spontaner, intrazerebraler Blutungen bei Patienten mit Thrombozytenaggregationshemmern nachzuweisen.

Methodik

In einem Zeitraum von sechs Jahren (2009 – 2015) wurden insgesamt 190 Patienten eingeschlossen. 97 Patienten wurden in die Transfusionsgruppe und 93 Patienten in die Kontroll-Gruppe ohne Thrombozytentransfusion randomisiert und in der „Intention to treat“-Analyse ausgewertet. Jeweils 95 Patienten wurden ausgewertet in der „as treated“-Analyse.

Ergebnisse

Entgegen der Vermutung der Studiengruppe überwogen die Nachteile für Patienten, die mit Thrombozytenkonzentraten behandelt wurden. Den kombinierten Endpunkt aus Versterben sowie verzögerter Rekonvaleszenz anhand des „Modified Ranking Scale“ erreichten signifikant mehr Patienten in der Transfusionsgruppe (adjusted common odds ratio 2,05, 95% CI 1,18–3,56; $p=0,0114$). Außerdem wurden mehr schwere unerwünschte Ereignisse in der Transfusionsgruppe gezählt.

Die PATCH-Studie gilt seither als Nachweis für die Unwirksamkeit bzw. die Gefahr von Thrombozytentransfusionen nach spontanen intrazerebralen Blutungen bei Patienten, die Thrombozytenaggregationshemmer eingenommen haben.

Limitationen

Trotz Randomisierung waren die Patientengruppen bezüglich der Morbidität in beiden Behandlungsarmen nicht gleich verteilt, sicher als Ergebnis der geringen Teilnehmerzahl. Die Patienten in der Transfusionsgruppe hatten in der Tendenz einen schlechteren Glasgow Koma Scale Score und ein höheres intrakranielles Hämatomvolumen. Zum anderen ist unklar, in wieweit sich die weitere Behandlung der Patienten in der Standard Care - Gruppe von der Transfusionsgruppe noch unterschieden hat (Open Label Design). Zuletzt hatten 19% der Teilnehmer mindestens ein Ausschlusskriterium und die

statistische Auswertung wurde nachträglich entgegen des ursprünglichen Protokolls geändert.

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Ergebnisse der Patch-Studie lassen durchaus vermuten, dass die therapeutische Wirksamkeit von Thrombozyten-transfusionen bei spontanen intrazerebralen Blutungen gering bzw. gar nicht vorhanden ist. Eine Gefahr von Thrombozyten-transfusionen im untersuchten Setting ist jedoch nicht zweifelsfrei nachgewiesen worden.

Auf keinen Fall kann aus der Patch-Studie geschlossen werden, dass Thrombozytentransfusionen bei allen intrakraniellen Blutungen kontraindiziert sind. Häufig besteht die Indikation für eine operative Therapie bei intrakranieller Blutung. Es gibt Hinweise, dass präoperative Thrombozytentransfusionen bei vorhandener OP-Indikation das Outcome der Patienten verbessern (22, 23). Darüber hinaus ist unklar, ob im Fall einer traumatischen Blutung die Verbesserung der zellulären Hämostase durch Thrombozytentransfusionen zu einem besseren Outcome führt. Wir haben bei Patienten mit erhöhtem MACCE-Risiko und intrakranieller Blutung mit OP-Indikation zumindest keinen starken Anstieg kardiovaskulärer Komplikationen (24) festgestellt. Die Effektivität von Thrombozytentransfusionen muss durch zukünftige klinische Studien in jedem einzelnen Setting untersucht werden, bevor eine abschließende Bewertung möglich ist.

Für Blutungen außerhalb des ZNS, zum Beispiel gastrointestinale Blutungen, existieren kaum Daten und deshalb keine Empfehlungen zur Thrombozytentransfusion. Eine kürzlich publizierte retrospektive Studie hat zumindest keinen Vorteil bei gastrointestinalen Blutungen unter Plättchenhemmern gezeigt (25).

Tranexamsäure

Die CRASH-2 Studie hat bei Polytraumapatienten mit Koagulopathie einen Überlebensvorteil gezeigt (26). Tranexamsäure reduzierte zudem den Blutverlust bei kardiochirurgischen Patienten gegenüber Placebo, die unter dualer Plättchenhemmung operiert wurden, ohne das Risiko für kardiale Ereignisse zu erhöhen (27, 28). In einer Beobachtungsstudie zeigte sich aber auch, dass eine duale Plättchenhemmung trotz Gabe von Tranexamsäure immer noch zu höheren Blutverlusten bei kardiochirurgischen Eingriffen führt, als eine Monotherapie mit ASS (29). Ohne Plättchenhemmer hat Tranexamsäure einen positiven Einfluss auf das Outcome bei oberen gastrointestinalen Blutungen (30).

Highlight 2: Tranexamsäure bei spontanen intrazerebralen Blutungen.

Sprigg N, Flaherty K, Appleton JP, Al-Shahi Salman R, Bereczki D, Beridze M, Christensen H, Ciccone A, Collins R, Czlonkowska A, Dineen RA, Duley L, Egea-Guerrero JJ, England TJ, Krishnan K, Laska AC, Law ZK, Ozturk S, Pocock SJ, Roberts I, Robinson TG, Roffe C, Seiffge D, Scutt P, Thanabalan J, Werring D, Whyne D, Bath PM, TICH Investigators. Tranexamic acid for hyperacute primary IntraCerebral Haemorrhage (TICH-2): an international randomised, placebo-controlled, phase 3 superiority trial. *Lancet*. 2018; 391 (10135): 2107-2115.

(31)

Hintergrund und Methodik

In dieser Multicenter –Studie wurden Erwachsene mit intrazerebraler Blutung randomisiert. Eine Gruppe (n=1161) erhielt einen Bolus von 1 g Tranexamsäure i.v. gefolgt von einer kontinuierlichen Gabe von 1 g Tranexamsäure über 8h, die andere Gruppe (n=1164) erhielt ein Placebo (0.9% NaCl) nach identischem Protokoll. Mehr als ¼ der Patienten nahm Thrombozytenaggregationshemmer ein. Primäres Outcome war der funktionelle Status nach 90 Tagen.

Ergebnisse

Das primäre Outcome unterschied sich nicht zwischen beiden Gruppen (adjusted odds ratio [aOR] 0,88, 95% CI 0,76–1,03, p=0,11). In der Behandlungsgruppe kam es aber zu einer signifikant geringeren Sterberate innerhalb der ersten 7 Behandlungstage: 101 [9%] im Tranexamsäure –Arm vs 123 [11%] in der Placebogruppe (aOR 0,73, 0,53–0,99, p=0,0406).

Limitationen

Benannt werden die heterogene Population, die breiten Einschlusskriterien in Bezug auf die Blutung und der oft späte Behandlungsbeginn in der Studie >3 h nach Beginn der Blutung.

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Studie bezieht sich nicht allein auf Patienten mit Thrombozytenaggregationshemmern. Sie zeigt, dass der therapeutische Effekt durch Tranexamsäure in Bezug auf das 90-Tage Outcome nach ICB geringer ist als erhofft. Vor diesem Hintergrund sollten mögliche prothrombogene Risiken von Tranexamsäure bei Patienten mit kürzlich implantierten Stents gewichtet werden.

Desmopressin

Prospektiv randomisierte Studien bei Patienten mit Blutungen unter Plättchenhemmern fehlen. Desmopressin verbessert nachweislich die Thrombozytenfunktion in einer Dosierung von 0.3µg per kg Körpergewicht nach Einnahme von ASS (32, 33), weniger

effektiv nach Clopidogrel-Einnahme (34), und nicht nach Ticagrelor-Einnahme (35). Desmopressin verbesserte ebenfalls die Plättchenfunktion bei 14 Patienten mit ICB unter Thrombozytenaggregationshemmern (36). Die präoperative Desmopressin-Gabe wurde bei kardiochirurgischen Patienten untersucht. Eine Metaanalyse fand hier eine signifikante Reduktion blutungsbedingter Reoperationen nach Anwendung von Desmopressin (33).

Rekombinanter Faktor VIIa

Prospektiv randomisierte Studien bei Patienten mit Blutungen unter Plättchenhemmern fehlen. Rekombinanter Faktor VIIa verbessert die Thrombingenerierung im Beisein von Prasugrels aktivem Metaboliten (37) sowie die Hämostase nach Einnahme von Ticagrelor (38).

Spezifische Antidots

Ein spezifisches Antidot ist für Ticagrelor entwickelt worden (39), aber noch nicht zugelassen.

Blutungsmanagement

Ziele bei der Behandlung von Blutungskomplikationen sind neben der Kreislaufstabilisation der rasche Verschluss der Blutungsquelle. Hieraus wird deutlich, dass der chirurgischen bzw. interventionellen Blutstillung im Blutungsnotfall häufig eine vorrangige Rolle zukommt. Ggf. sind Erythrozytentransfusionen bei größeren Blutverlusten erforderlich. Prohämostatische Therapien sollten ergänzend eingesetzt werden. Müssen die Plättchenhemmer pausiert werden, sollten diese je nach Risikoprofil (Blutungs- und Thromboserisiko) so früh wie möglich wieder verabreicht werden. Bei dualer Plättchenhemmung empfiehlt sich ein stufenweises Vorgehen (Beginn mit ASS, spätere Hinzunahme des ADP-Antagonisten).

Management für Notfalleingriffe

Notoperationen können in den meisten Fällen ohne prohämostatische Therapien erfolgen, wenn Patienten ausschließlich ASS eingenommen haben. Das zusätzliche Blutungsrisiko bedingt durch die ASS-Einnahme ist gering und eine Verzögerung des Eingriffs wäre oft mit negativeren Folgen behaftet. Auch unter dualer Plättchenhemmung empfehlen aktuelle Leitlinien, die Eingriffe unter Beibehaltung der Plättchenhemmung durchzuführen (40). ADP-Hemmer sollten dann abgesetzt werden, wenn das Blutungsrisiko das Risiko koronarer Verschlüsse übersteigt (1, 41). Chirurgen sollten alle Maßnahmen zur Blutstillung ausschöpfen.

Prohämostatische Therapien wurden auch für OPs untersucht (siehe oben). Für Operationen mit sehr hohem Blutungsrisiko (z.B. Neurochirurgie) haben wir ein Protokoll für Patienten mit dualer Thrombozytenaggregationshemmung entwickelt (42):

1. OP möglichst auf 12-24h nach der letzten Einnahme von ASS und Clopidogrel verschieben. In dieser Zeitspanne können die Plättchenhemmer und ihre Metaboliten aus dem Kreislauf eliminiert werden.
2. Präoperativ werden 2 Thrombozytenkonzentrate transfundiert.
3. ASS wird 6 - 12 h postoperativ fortgesetzt
4. Clopidogrel wird nach 24-48h fortgesetzt, wenn es bis dahin nicht zu Nachblutungen gekommen ist.

Wichtig ist zu berücksichtigen, dass unter Ticagrelor dieses Management nicht genutzt werden kann. Der reversible Wirkmechanismus führt zur Hemmung auch der transfundierten Thrombozyten bis zu 96h nach der letzten Einnahme.

Unter diesem Management haben wir 181 konsekutive Notfallpatienten mit dualer Plättchenhemmung in einer Beobachtungsstudie untersucht (43): Stentthrombosen traten nicht auf. Es kam zu 3 Herzinfarkten. Diese wurden als Supply-Demand-Mismatch eingestuft. Chirurgische Blutungen traten bei 22 Patienten auf (12.2%; 95% CI, 8.2-17.7%), 12 Re-interventionen waren notwendig (6.6%; 95% CI, 3.8-11.2%). Die Daten rechtfertigen den Beginn einer Studie zur Testung präoperativer Thrombozytentransfusionen. Ein Vergleich mit anderen Protokollen existiert bislang nicht.

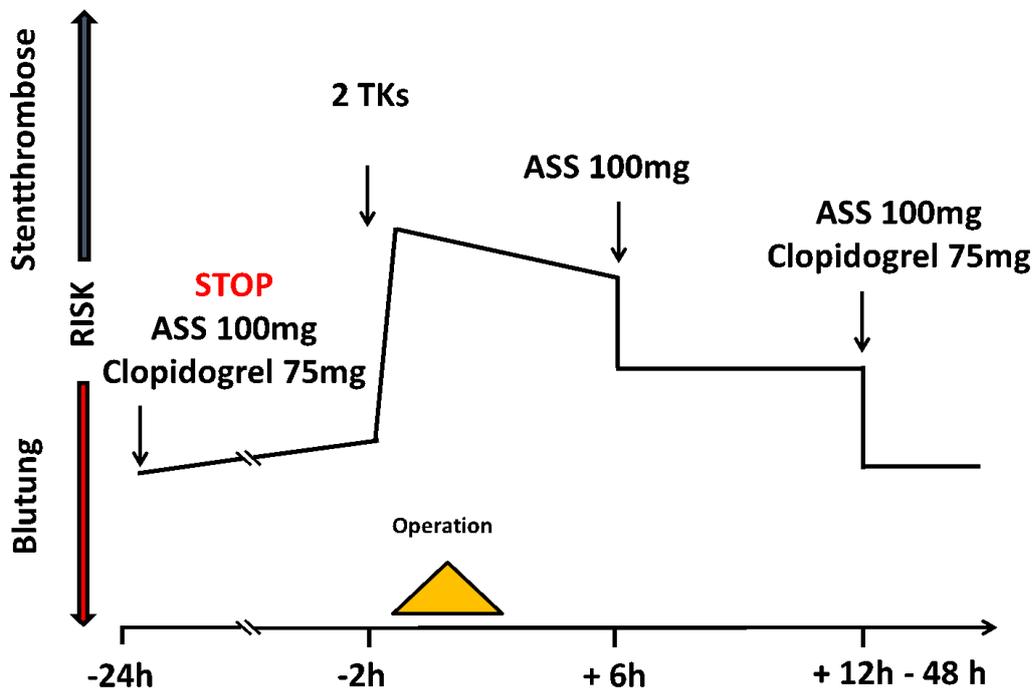


Abb. 1: Perioperatives Notfallmanagement bei Patienten mit dualer Plättchenhemmung. Aus: (24, 42, 43).

Literatur

1. Fogarty Mack P. Intracranial haemorrhage: therapeutic interventions and anaesthetic management. *Br J Anaesth*. 2014; 113 Suppl 2: ii17-25.
2. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S, Baumgartner H, Gaemperli O, Achenbach S, Agewall S, Badimon L, Baigent C, Bueno H, Bugiardini R, Carerj S, Casselman F, Cuisset T, Erol Ç, Fitzsimons D, Halle M, Hamm C, Hildick-Smith D, Huber K, Iliodromitis E, James S, Lewis BS, Lip GYH, Piepoli MF, Richter D, Rosemann T, Sechtem U, Steg PG, Vrints C, Luis Zamorano J. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*. 2016; 37 (3): 267-315.
3. European Stroke O, Tendera M, Aboyans V, Bartelink ML, Baumgartner I, Clement D, Collet JP, Cremonesi A, De Carlo M, Erbel R, Fowkes FG, Heras M, Kownator S, Minar E, Ostergren J, Poldermans D, Rimbau V, Roffi M, Rother J, Sievert H, van Sambeek M, Zeller T, Guidelines ESCCfP. ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: the Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2011; 32 (22): 2851-2906.
4. Rothwell PM, Algra A, Chen Z, Diener H-C, Norrving B, Mehta Z. Effects of aspirin on risk and severity of early recurrent stroke after transient ischaemic attack and ischaemic stroke: time-course analysis of randomised trials. *Lancet (London, England)*. 2016; 388 (10042): 365-375.
5. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, Ameriso SF, Dalby AJ, Fish MP, Fox KA, Lipka LJ, Liu X, Nicolau JC, Ophuis AJ, Paolasso E, Scirica BM, Spinar J, Theroux P, Wiviott SD, Strony J, Murphy SA. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med*. 2012; 366 (15): 1404-1413.
6. Spyropoulos AC, Albaladejo P, Godier A, Greinacher A, Hron G, Levy JH, Samama CM, Douketis JD. Periprocedural antiplatelet therapy: recommendations for standardized reporting in patients on antiplatelet therapy: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2013; 11 (8): 1593-1596.
7. Garcia Rodriguez LA, Martin-Perez M, Hennekens CH, Rothwell PM, Lanan A. Bleeding Risk with Long-Term Low-Dose Aspirin: A Systematic Review of Observational Studies. *PLoS One*. 2016; 11 (8): e0160046.
8. Li L, Geraghty OC, Mehta Z, Rothwell PM, Oxford Vascular S. Age-specific risks, severity, time course, and outcome of bleeding on long-term antiplatelet treatment after vascular events: a population-based cohort study. *Lancet*. 2017; 390 (10093): 490-499.
9. Hao Q, Tampi M, O'Donnell M, Foroutan F, Siemieniuk RA, Guyatt G. Clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone for acute minor ischaemic stroke or high risk transient ischaemic attack: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2018; 363: k5108.
10. Bouget J, Oger E. Emergency admissions for major haemorrhage associated with direct oral anticoagulants. *Thromb Res*. 2015; 136 (6): 1190-1194.
11. Devereaux PJ, Mrkobrada M, Sessler DI, Leslie K, Alonso-Coello P, Kurz A, Villar JC, Sigamani A, Biccari BM, Meyhoff CS, Parlow JL, Guyatt G, Robinson A, Garg AX, Rodseth RN, Botto F, Lurati Buse G, Xavier D, Chan MT, Tiboni M, Cook D, Kumar PA, Forget P, Malaga G, Fleischmann E, Amir M, Eikelboom J, Mizera R, Torres D, Wang CY, VanHelder T, Paniagua P, Berwanger O, Srinathan S, Graham M, Pasin L, Le Manach Y, Gao P, Pogue J, Whitlock R, Lamy A, Kearon C, Baigent C, Chow C, Pettit S, Chrolavicius S, Yusuf S, Investigators P-. Aspirin in patients undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med*. 2014; 370 (16): 1494-1503.
12. Siller-Matula JM, Petre A, Delle-Karth G, Huber K, Ay C, Lordkipanidze M, De Caterina R, Kolh P, Mahla E, Gersh BJ. Impact of preoperative use of P2Y12 receptor inhibitors on clinical outcomes in cardiac and non-cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2017; 6 (8): 753-770.

Medikamentös bedingte Thrombozytenfunktionsstörungen – Thomas Thiele

13. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD, Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology /American College of Cardiology /American Heart Association /World Heart Federation Task Force for the Universal Definition of Myocardial I. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018; 138 (20): e618-e651.
14. Devereaux PJ, Eikelboom J. Insights into myocardial infarction after noncardiac surgery in patients with a prior coronary artery stent. *Br J Anaesth*. 2016; 116 (5): 584-586.
15. Helwani MA, Amin A, Lavigne P, Rao S, Oesterreich S, Samaha E, Brown JC, Nagele P. Etiology of Acute Coronary Syndrome after Noncardiac Surgery. *Anesthesiology*. 2018; 128 (6): 1084-1091.
16. Li C, Hirsh J, Xie C, Johnston MA, Eikelboom JW. Reversal of the anti-platelet effects of aspirin and clopidogrel. *J Thromb Haemost*. 2012; 10 (4): 521-528.
17. Zafar MU, Santos-Gallego C, Vorchheimer DA, Viles-Gonzalez JF, Elmariah S, Giannarelli C, Sartori S, Small DS, Jakubowski JA, Fuster V, Badimon JJ. Platelet function normalization after a prasugrel loading-dose: time-dependent effect of platelet supplementation. *J Thromb Haemost*. 2013; 11 (1): 100-106.
18. Godier A, Taylor G, Gaussem P. Inefficacy of platelet transfusion to reverse ticagrelor. *N Engl J Med*. 2015; 372 (2): 196-197.
19. Teng R, Carlson GF, Nylander S, Andersson TL. Effects of autologous platelet transfusion on platelet inhibition in ticagrelor-treated and clopidogrel-treated subjects. *J Thromb Haemost*. 2016; 14 (12): 2342-2352.
20. Martin AC, Berndt C, Calmette L, Philip I, Decouture B, Gaussem P, Gouin-Thibault I, Samama CM, Bachelot-Loza C, Godier A. The effectiveness of platelet supplementation for the reversal of ticagrelor-induced inhibition of platelet aggregation: An in-vitro study. *Eur J Anaesthesiol*. 2016; 33 (5): 361-367.
21. Baharoglu MI, Cordonnier C, Al-Shahi Salman R, de Gans K, Koopman MM, Brand A, Majoie CB, Beenen LF, Marquering HA, Vermeulen M, Nederkoorn PJ, de Haan RJ, Roos YB, Investigators P. Platelet transfusion versus standard care after acute stroke due to spontaneous cerebral haemorrhage associated with antiplatelet therapy (PATCH): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2016; 387 (10038): 2605-2613.
22. Li X, Sun Z, Zhao W, Zhang J, Chen J, Li Y, Ye Y, Zhao J, Yang X, Xiang Y, Li G, Mao J, Zhang W, Zhang M, Zhang W. Effect of acetylsalicylic acid usage and platelet transfusion on postoperative hemorrhage and activities of daily living in patients with acute intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg*. 2013; 118 (1): 94-103.
23. Gulati D, Dua D, Torbey MT. Hemostasis in Intracranial Hemorrhage. *Front Neurol*. 2017; 8: 80.
24. Baschin M, Selleng S, Zeden JP, Westphal A, Kohlmann T, Schroeder HW, Greinacher A, Thiele T. Platelet transfusion to reverse antiplatelet therapy before decompressive surgery in patients with intracranial haemorrhage. *Vox Sang*. 2017.
25. Zakko L, Rustagi T, Douglas M, Laine L. No Benefit From Platelet Transfusion for Gastrointestinal Bleeding in Patients Taking Antiplatelet Agents. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017; 15 (1): 46-52.
26. collaborators C-t, Shakur H, Roberts I, Bautista R, Caballero J, Coats T, Dewan Y, El-Sayed H, Gogichaishvili T, Gupta S, Herrera J, Hunt B, Iribhogbe P, Izurieta M, Khamis H, Komolafe E, Marrero MA, Mejia-Mantilla J, Miranda J, Morales C, Olaomi O, Ollidashi F, Perel P, Peto R, Ramana PV, Ravi RR, Yutthakasemsunt S. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2010; 376 (9734): 23-32.
27. Myles PS, Smith JA, Painter T. Tranexamic Acid in Patients Undergoing Coronary-Artery Surgery. *N Engl J Med*. 2017; 376 (19): 1893.
28. Shi J, Ji H, Ren F, Wang G, Xu M, Xue Y, Chen M, Qi J, Li L. Protective effects of tranexamic acid on clopidogrel before coronary artery bypass grafting: a multicenter randomized trial. *JAMA Surg*. 2013; 148 (6): 538-547.

Medikamentös bedingte Thrombozytenfunktionsstörungen – Thomas Thiele

29. Amour J, Garnier M, Szymezak J, Le Manach Y, Helley D, Bertil S, Ouattara A, Riou B, Gaussem P. Prospective observational study of the effect of dual antiplatelet therapy with tranexamic acid treatment on platelet function and bleeding after cardiac surgery. *Br J Anaesth*. 2016; 117 (6): 749-757.
30. Bennett C, Klingenberg SL, Langholz E, Gluud LL. Tranexamic acid for upper gastrointestinal bleeding. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014; (11): CD006640.
31. Sprigg N, Flaherty K, Appleton JP, Al-Shahi Salman R, Bereczki D, Beridze M, Christensen H, Ciccone A, Collins R, Czlonkowska A, Dineen RA, Duley L, Egea-Guerrero JJ, England TJ, Krishnan K, Laska AC, Law ZK, Ozturk S, Pocock SJ, Roberts I, Robinson TG, Roffe C, Seiffge D, Scutt P, Thanabalan J, Werring D, Whynes D, Bath PM, Investigators T-. Tranexamic acid for hyperacute primary IntraCerebral Haemorrhage (TICH-2): an international randomised, placebo-controlled, phase 3 superiority trial. *Lancet*. 2018; 391 (10135): 2107-2115.
32. Mannucci PM, Vicente V, Vianello L, Cattaneo M, Alberca I, Coccato MP, Faioni E, Mari D. Controlled trial of desmopressin in liver cirrhosis and other conditions associated with a prolonged bleeding time. *Blood*. 1986; 67 (4): 1148-1153.
33. Desborough MJ, Oakland KA, Landoni G, Crivellari M, Doree C, Estcourt LJ, Stanworth SJ. Desmopressin for treatment of platelet dysfunction and reversal of antiplatelet agents: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Thromb Haemost*. 2017; 15 (2): 263-272.
34. Levine M, Swenson S, McCormick T, Henderson SO, Thomas SH, Markland FS. Reversal of thienopyridine-induced platelet dysfunction following desmopressin administration. *J Med Toxicol*. 2013; 9 (2): 139-143.
35. Teng R, Mitchell PD, Butler K. The effect of desmopressin on bleeding time and platelet aggregation in healthy volunteers administered ticagrelor. *J Clin Pharm Ther*. 2014; 39 (2): 186-191.
36. Naidech AM, Maas MB, Levasseur-Franklin KE, Liotta EM, Guth JC, Berman M, Rosenow JM, Lindholm PF, Bendok BR, Prabhakaran S, Bernstein RA, Kwaan HC. Desmopressin improves platelet activity in acute intracerebral hemorrhage. *Stroke*. 2014; 45 (8): 2451-2453.
37. Mazzeffi M, Szlam F, Jakubowski JA, Tanaka KA, Sugidachi A, Levy JH. In vitro effects of recombinant activated factor VII on thrombin generation and coagulation following inhibition of platelet procoagulant activity by prasugrel. *Thromb Res*. 2013; 132 (1): 106-111.
38. Calmette L, Martin AC, Le Bonniec B, Zlotnik D, Gouin-Thibault I, Bachelot-Loza C, Gaussem P, Godier A. Ticagrelor reversal: in vitro assessment of four haemostatic agents. *J Clin Pathol*. 2017; 70 (9): 733-739.
39. Buchanan A, Newton P, Pehrsson S, Inghardt T, Antonsson T, Svensson P, Sjogren T, Oster L, Janefeldt A, Sandinge AS, Keyes F, Austin M, Spooner J, Gennemark P, Penney M, Howells G, Vaughan T, Nylander S. Structural and functional characterization of a specific antidote for ticagrelor. *Blood*. 2015; 125 (22): 3484-3490.
40. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *European Heart Journal*. 2014; 35 (37): 2541-2619.
41. Fleisher LA, Fleischmann KE, Auerbach AD, Barnason SA, Beckman JA, Bozkurt B, Davila-Roman VG, Gerhard-Herman MD, Holly TA, Kane GC, Marine JE, Nelson MT, Spencer CC, Thompson A, Ting HH, Uretsky BF, Wijeyesundera DN. 2014 ACC/AHA guideline on perioperative cardiovascular evaluation and management of patients undergoing noncardiac surgery: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014; 130 (24): 2215-2245.
42. Thiele T, Sumnig A, Hron G, Muller C, Althaus K, Schroeder HW, Greinacher A. Platelet transfusion for reversal of dual antiplatelet therapy in patients requiring urgent surgery: a pilot study. *J Thromb Haemost*. 2012; 10 (5): 968-971.
43. Baschin M, Selleng S, Hummel A, Diedrich S, Schroeder HW, Kohlmann T, Westphal A, Greinacher A, Thiele T. Preoperative platelet transfusions to reverse antiplatelet therapy for urgent non-cardiac surgery: an observational cohort study. *J Thromb Haemost*. 2018; 16 (4): 709-717.

Innovative Therapien: Präklinische Entwicklungen

Prof. Dr. Dr. Thomas Renné

Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

E-Mail: t.renne@uke.de

State of the Art	3
Highlight 1: Sichere Antikoagulantien durch Blockade des Kontaktphasesystems	4
Highlight 2: Polyphosphate: anorganische Polymere auf Thrombozyten.....	6
Highlight 3: NETs-Aggregate verstopfen Blutgefäße.....	7
Literatur.....	9

State of the Art

Interaktionen von Gerinnungs- und Entzündungsmechanismen

Blutgerinnung und Entzündungsprozesse werden als unabhängige pathologische Prozesse angesehen, jedoch interagieren diese beiden Abwehrsysteme vielfältig auf verschiedensten Ebenen. Die Wechselwirkung von proinflammatorischen und prokoagulant Mechanismen sind bei Infektionserkrankungen und Entzündungsprozessen von zentraler Bedeutung (1). Im klassischen Kaskaden-/ Wasserfall-Modell der Blutgerinnung kann die Fibrinbildung durch zwei unterschiedliche Mechanismen gestartet werden: durch Bestandteile der verletzten Gefäßwand (extrinsischer Weg) oder durch Komponenten des Plasmas (intrinsischer Weg). Der intrinsische Gerinnungsweg wird durch Faktor XII (FXII) mit den Plasmaproteinen Hochmolekulares Kininogen (HK) und Plasmakallikrein (PK) gestartet. Zusammen bilden diese Proteine das proinflammatorische und prokoagulante Kontaktphasesystem (**Abbildung 1**). Kontakt der FXII Zymogenform mit negativ geladenen Oberflächen induziert eine Konformationsänderung und aktiviert so FXII (FXIIa). FXIIa aktiviert dann PK zu aktivem Kallikrein, das weitere FXII Zymogenmoleküle aktiviert. FXIIa startet die Bildung von Fibrin über die Aktivierung von Faktor XI (FXI). Aktives Kallikrein setzt proteolytisch den kurzlebigen Entzündungsmediator Bradykinin (BK, ein Peptidhormon) aus seiner inaktiven Vorstufe, dem HK, frei. Bradykinin bindet an G-Protein-gekoppelte Kinin B2 Rezeptoren (B2R) und aktiviert proinflammatorische Signalwege (2).

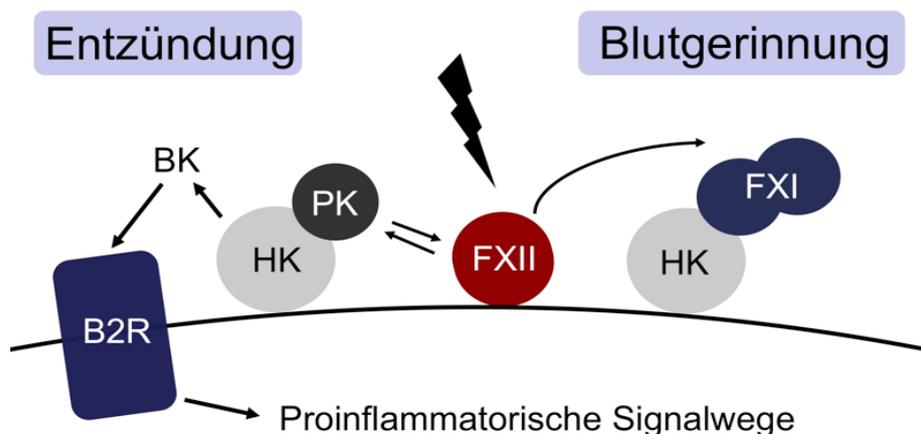


Abb. 1: Das Faktor XII-getriebene Kontaktphasesystem. Ein Kontakt mit negativ geladenen Oberflächen aktiviert Faktor XII (FXII) auf Zelloberflächen. Die aktive Protease startet die Bildung von Fibrin über Faktor XI (FXI). Aktivierter FXII produziert den Entzündungsmediator Bradykinin (BK) durch Plasma Kallikrein (PK)-vermittelte Prozessierung von Hochmolekularem Kininogen (HK). BK stimuliert Kinin B2 Rezeptoren (B2R), die intrazelluläre proinflammatorische Signalwege starten. Eigene Abb. des Autors.

Highlight 1: Sichere Antikoagulantien durch Blockade des Kontaktphasesystems

Larsson M, Rayzman V, Nolte MW, Nickel KF, Bjorkqvist J, Jamsa A, Hardy MP, Fries M, Schmidbauer S, Hedenqvist P, Broome M, Pragst I, Dickneite G, Wilson MJ, Nash AD, Panousis C, Renne T. A factor XIIa inhibitory antibody provides thromboprotection in extracorporeal circulation without increasing bleeding risk. *Sci Transl Med.* 2014; 6 (222): 222-217.

(3)

Die Autoaktivierung von FXII durch das unphysiologische Material Kaolin (ein Silikat) wird diagnostisch eingesetzt, um einen wichtigen Blutgerinnungstest die „aktivierte partielle Thromboplastinzeit“ (aPTT) zu starten. Trotz der Bedeutung von FXII für die Bildung von Fibrin im Reagenzglas nahm man über Jahrzehnte an, dass FXII keine Funktion beim Menschen habe. Diese Annahme basiert auf der Tatsache, dass Menschen mit vollständiger FXII Defizienz keine erhöhte Blutungsneigung aufweisen. Im Gegensatz zur FXII Defizienz kommt es bei Patienten mit Mangel an anderen Faktoren der Blutgerinnungskaskade wie z.B. Faktor VIII oder IX zu einer erhöhten Blutungsneigung (Hämophilie A und B). Unser Labor hat die ersten FXII-defizienten (FXII^{-/-}) Mäuse generiert und in experimentellen Thrombosemodellen phänotypisiert. Überraschenderweise und entgegen dem Lehrbuchdogma einer Gerinnungsbalance ist die Bildung von Thrombosen in arteriellen und venösen Gefäßen bei FXII^{-/-} Mäusen erheblich gestört (4). Obwohl die Tiere vor pathologischen Thrombosen geschützt sind, bluten FXII^{-/-} Mäuse ebenso wie FXII-defiziente Menschen nicht vermehrt. In nachfolgenden Arbeiten konnte gezeigt werden, dass FXII^{-/-} Mäuse vor ischämischem Schlaganfall geschützt sind. Rekonstitution mit humanem FXII hebt den protektiven Effekt wieder vollständig auf. Dies zeigt, dass FXII in Menschen und Mäusen sehr ähnlich wirkt und dass Mausmodelle geeignet sind, FXII-vermittelte Erkrankungen und Therapien zu entschlüsseln.

Die Funktion des FXII-getriebenen Kontaktphasesystems für die „pathologische“ Fibrinbildung ist nicht auf Mausmodelle beschränkt. Auch bei Patienten schützt Defizienz des FXIIa Substrates FXI vor pathologischen thrombosen nach Operationen ohne die Blutungsneigung zu erhöhen (5). Die Ergebnisse an genetisch veränderten Mäusen zeigten erstmalig, dass das Konzept eines „hämostatischen Thrombus“, der durch eine überschießende Aktivierung der „normalen“ (hämostatischen) Fibrinbildenden Gerinnungsmechanismen entsteht, einer Revision bedarf. Ebenso wie ein FXII Mangel schützt auch die Defizienz (oder Inhibition) der Kontaktsystemfaktoren PK, FXI und HK vor Thrombosen ohne die Blutungsneigung bei Mäusen und Menschen zu erhöhen.

Die wichtigen Funktionen von FXII bei thromboembolischen und entzündlichen Erkrankungen verbunden mit der Tatsache, dass selbst die komplette Defizienz des Proteins beim Menschen mit keiner offenkundigen Erkrankung assoziiert ist, macht FXII zu einem sehr attraktiven „Target“ für eine pharmakologische Intervention. So wurde der rekombinante humanisierte FXII-inhibitorische Antikörper 3F7 generiert, der die proteolytische Aktivität von FXII potent blockiert. 3F7 blockiert die FXII-getriebene Fibrinbildung im Plasma und schützt in experimentellen Thrombosemodellen bei Mäusen und Kaninchen vor Thrombosen. 3F7 blockiert in einer in der Klinik verwendeten speziellen Herz-Lungenmaschine (Extrakorporale Membran Oxygenierung, ECMO) die Bildung von Thrombosen im Oxygenator (Abbildung 2). 3F7 wirkt genauso

thromboprotektiv wie Heparin in diesem Bypassystem jedoch erhöht 3F7 die Blutungsneigung in behandelten Tieren nicht (3). Der anti-FXIIa Antikörper 3F7 eröffnet die Option auf eine sichere neue Art der Antikoagulanz, die im Gegensatz zu allen aktuell verwendeten Antikoagulanzen nicht mit einer erhöhten Blutungsneigung assoziiert ist.



Abb. 2: Elektronenmikroskopische Darstellung von Thrombosen. Kontrolle: Oxygenatoren von Kochsalz (Kontrolle) und anti-FXII 3F7 Antikörper behandelten Kaninchen nach ECMO Therapie. Abb. aus (3)

Bedeutung für die klinische Praxis

Zusammenfassend zeigen die Daten aus Tiermodellen und initiale Patientendaten, dass die FXII-FXI Kaskade „Targets“ für eine attraktive Strategie zur Antikoagulanz darstellen, die im Gegensatz zu allen aktuell verwendeten Antikoagulanzen (Heparin, Vitamin-K-Antagonisten/Marcumar, Thrombin- und Faktor Xa Inhibitoren, etc.) sicher ist und keine Blutungsneigung induziert.

Highlight 2: Polyphosphate: anorganische Polymere auf Thrombozyten

Verhoef JJ, Barendrecht AD, Nickel KF, Dijkxhoorn K, Kenne E, Labberton L, McCarty OJ, Schiffelers R, Heijnen HF, Hendrickx AP, Schellekens H, Fens MH, de Maat S, Renne T, Maas C. Polyphosphate nanoparticles on the platelet surface trigger contact system activation. *Blood*. 2017; 129 (12): 1707-1717.

(6)

Aktivierung des prokoagulanten und proinflammatorischen Kontaktphasesystems

Im diagnostischen Labor wird die FXII-getriebene intrinsische Gerinnungskaskade durch Kaolin (ein Silikat/Porzellanerde) oder „elagic acid“ für aPTT Assays gestartet. Diese beiden anorganischen Polymere aktivieren FXII sehr potent, kommen aber nicht im menschlichen Organismus vor. Wie wird FXII *in vivo* aktiviert?

In den letzten Jahren wurden mehrere biologische Substanzen identifiziert, die eine Kontakt-vermittelte Autoaktivierung von FXII induzieren. Hierzu gehören RNA, Aggregate aus fehlgefalteten Proteinen, Kollagen und Polyphosphat. Polyphosphat fungiert als der endogene Aktivator von FXII auf aktivierten Thrombozyten (7). Polyphosphat ist ein anorganisches Polymer, das aus linear über Phosphoanhydridbindungen verknüpften Phosphatresten besteht.

Lösliche thrombozytäre Polyphosphate sind ca. 60-100 Phosphateinheiten lang und werden von aktivierten Blutplättchen sekretiert wohingegen langkettige Polyphosphate als Ca^{2+} -reiche Nanopartikel auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten akkumulieren und dort FXII aktivieren (6). Diese Polyphosphate auf der Thrombozytenoberfläche und bakterielle Polyphosphate erreichen bis zu 1000 Phosphateinheiten. Polyphosphate aktivieren FXII und initiieren die Bildung von Fibrin auf prokoagulant Thrombozyten und Bakterienoberflächen. Die Gabe von (Poly)phosphatasen blockiert die Thrombusbildung *in vitro* und Polyphosphat-getriebene thromboembolische und inflammatorische Erkrankungen in Mausmodellen (8). Kaum etwas über Biosynthese, Metabolismus und die biologischen Funktionen von Polyphosphaten in eukaryotischen Zellen und auf der Ebene des Gesamttieres bei Säugern bekannt.

Bedeutung für die klinische Praxis

Anorganische Polymere, Polyphosphate haben zentrale Funktionen bei Thrombosen und wirken über FXII. Zielgerichtete Blockade von Polyphosphaten ist Gegenstand aktueller Forschung und kann eine völlig neue Strategie zur Modulation von prothrombogener Aktivität darstellen.

Highlight 3: NETs-Aggregate verstopfen Blutgefäße

Jimenez-Alcazar M, Rangaswamy C, Panda R, Bitterling J, Simsek YJ, Long AT, Bilyy R, Krenn V, Renne C, Renne T, Kluge S, Panzer U, Mizuta R, Mannherz HG, Kitamura D, Herrmann M, Napirei M, Fuchs TA. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017; 358 (6367): 1202-1206.

(9)

Auslöser für Gefäßverschlüsse sind nach bislang gültiger medizinischer Lehrmeinung hauptsächlich zwei Mechanismen: das Verklumpen von Blutplättchen und die Blutgerinnung, die zusammen zur Bildung eines Blutgerinnsels führen. Die Blutgerinnung führt hierbei zu langen Fibrin-Fäden, die Aggregate von Blutplättchen stabilisieren.

Die Erbsubstanz DNA ist, ähnlich wie Fibrin, ein langes Filament. Die DNA wird eng verpackt in den Körperzellen gelagert. Spezialisierte weiße Blutzellen, die neutrophilen Granulozyten, nutzen die physikalischen Eigenschaften der DNA-Filamente, um daraus Netzstrukturen auszubilden. Die als NETs (Neutrophil Extracellular Traps) bezeichneten DNA-Netze wurden erstmalig 2004 beschrieben. NETs dienen dem Körper als ein wichtiger Abwehrmechanismus bei Infektionen, da sie Bakterien und Mikroben außerhalb der Zelle einfangen können. In den letzten Jahren konnten Störungen der NETs-Bildung mit einer Reihe von inflammatorischen und (auto)immunologischen Erkrankungen assoziiert werden.

Wir haben in den letzten Jahren untersucht, wie sich der Körper gegen die schlechten DNA-Netze schützt. Dabei haben wir herausgefunden, dass in der Blutbahn zwei spezialisierte Enzyme, so genannte DNA-Scheren, zirkulieren, die DNA-Netze im Normalfall verdauen und unschädlich machen (9). Die beiden Enzyme mit den Namen „DNase1“ und „DNase1-like 3“ arbeiten unabhängig voneinander. Beide zersetzen die DNA-Netze selbstständig, wenn sie mit diesen in Kontakt kommen. Im Labor wurden mit Hilfe gentechnischer Verfahren die beiden Enzyme in Mäusen ausgeschaltet. In diesen sogenannten DNase-defizienten Mäusen sammelten sich unverdaute DNA-Netze bei Entzündungen in den Blutgefäßen. Die DNA-Netze bildeten Aggregate, die den Blutfluss in Venen und Arterien blockieren und dadurch schwere Organschäden auslösen (siehe Abbildung). Die NET-Aggregate verstopften hierbei die Blutgefäße ohne Mithilfe von Fibrin und Blutplättchen. Folglich konnte eine Therapie mit Antikoagulanzen und Plättchenhemmern, die ischämischen Organschäden nicht verhindern. Dagegen konnten die NETs-Aggregate durch eine Gentherapie mit DNase1 oder DNase1-like 3 abgebaut werden. Somit bilden die beiden DNA-Scheren ein zweistufiges Sicherheitssystem gegen intravaskuläre NETs.

Bei Patienten, entstehen DNA-Netze in den Blutgefäßen zum Beispiel als Abwehrreaktion auf eingedrungene Bakterien, wie das bei einer lebensbedrohlichen Sepsis („Blutvergiftung“) der Fall sein kann. Wir haben bei Patienten mit Sepsis entdeckt, dass die Aktivität der DNA-Scheren stark vermindert sein kann. Dadurch steigt die Gefahr für ein Organversagen aufgrund von Gefäßverschlüssen. Die Erkenntnisse könnten nun völlig neue diagnostische und therapeutische Optionen eröffnen. So könnten DNase-defiziente Sepsis-Patienten mit rekombinanten aktiven DNA-Scheren behandelt werden, um die gefährlichen DNA-Netze in der Blutbahn zu verdauen.

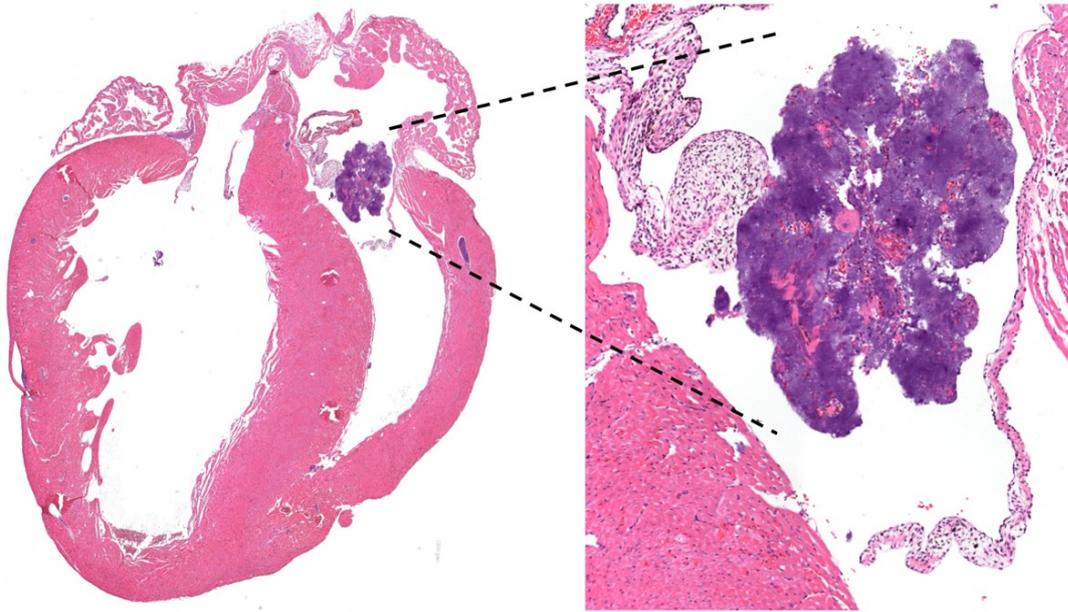


Abb. 3: Aggregat aus NETs verstopft Herzkammer. Die Abbildung zeigt eine Hematoxylin & Eosin Färbung vom Herz einer DNase-defizienten Maus. Hematoxylin färbt die DNA von NETs in violett und zeigt so, dass große NETs-Aggregat. Links: Übersicht. Rechts: Vergrößerung des NETs-Aggregats (10).

Bedeutung für die klinische Praxis

Neben Fibringerinnenseln können auch DNA Aggregate aus Neutrophilen Granulozyten (sogenannte NETs) Gefäße blockieren und DNA abbauende Enzyme (DNasen) wirken antithrombotisch.

Literatur

1. Maas C, Renne T. Coagulation factor XII in thrombosis and inflammation. *Blood*. 2018; 131 (17): 1903-1909.
2. Naudin C, Burillo E, Blankenberg S, Butler L, Renne T. Factor XII Contact Activation. *Semin Thromb Hemost*. 2017; 43 (8): 814-826.
3. Larsson M, Rayzman V, Nolte MW, Nickel KF, Bjorkqvist J, Jamsa A, Hardy MP, Fries M, Schmidbauer S, Hedenqvist P, Broome M, Pragst I, Dickneite G, Wilson MJ, Nash AD, Panousis C, Renne T. A factor XIIa inhibitory antibody provides thromboprotection in extracorporeal circulation without increasing bleeding risk. *Sci Transl Med*. 2014; 6 (222): 222-217.
4. Renne T, Pozgajova M, Gruner S, Schuh K, Pauer HU, Burfeind P, Gailani D, Nieswandt B. Defective thrombus formation in mice lacking coagulation factor XII. *J Exp Med*. 2005; 202 (2): 271-281.
5. Buller HR, Bethune C, Bhanot S, Gailani D, Monia BP, Raskob GE, Segers A, Verhamme P, Weitz JI. Factor XI antisense oligonucleotide for prevention of venous thrombosis. *N Engl J Med*. 2015; 372 (3): 232-240.
6. Verhoef JJ, Barendrecht AD, Nickel KF, Dijkxhoorn K, Kenne E, Labberton L, McCarty OJ, Schiffelers R, Heijnen HF, Hendrickx AP, Schellekens H, Fens MH, de Maat S, Renne T, Maas C. Polyphosphate nanoparticles on the platelet surface trigger contact system activation. *Blood*. 2017; 129 (12): 1707-1717.
7. Muller F, Mutch NJ, Schenk WA, Smith SA, Esterl L, Spronk HM, Schmidbauer S, Gahl WA, Morrissey JH, Renne T. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*. 2009; 139 (6): 1143-1156.
8. Labberton L, Kenne E, Long AT, Nickel KF, Di Gennaro A, Rigg RA, Hernandez JS, Butler L, Maas C, Stavrou EX, Renne T. Neutralizing blood-borne polyphosphate in vivo provides safe thromboprotection. *Nat Commun*. 2016; 7: 12616.
9. Jimenez-Alcazar M, Rangaswamy C, Panda R, Bitterling J, Simsek YJ, Long AT, Bilyy R, Krenn V, Renne C, Renne T, Kluge S, Panzer U, Mizuta R, Mannherz HG, Kitamura D, Herrmann M, Napirei M, Fuchs TA. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017; 358 (6367): 1202-1206.
10. Lim GB. DNases prevent clots formed by neutrophil extracellular traps. *Nat Rev Cardiol*. 2018; 15: 69.

Antithrombotische Differenzialtherapie - Thrombozytenhemmung

Prof. Dr. Daniel Dürschmied

Kardiologie und Angiologie I

Universitäts-Herzzentrum Freiburg – Bad Krozingen

E-Mail: daniel.duerschmied@universitaets-herzzentrum.de

State of the Art	3
Highlight 1: ARRIVE – Primärprophylaxe mit ASS bei moderat erhöhtem CV Risiko	9
Highlight 2: ASCEND – Primärprophylaxe mit ASS bei Diabetes mellitus	11
Highlight 3: ASPREE – Primärprophylaxe mit ASS bei älteren Menschen	13
Literatur	15

State of the Art

Update der Thrombozytenhemmung - Indikationen

Welche Indikationen erfordern (und rechtfertigen) eine medikamentöse Thrombozytenhemmung? Diese Frage ist 2019 klarer zu beantworten als noch vor einem Jahr. Im Sommer 2018 erschienen drei große Studien, die die seit vielen Jahren diskutierte Frage nach der Primärprophylaxe mit ASS eindeutig beantworteten. Und zwar mit einem klaren „Nein“.

Die Leitlinien zur dualen Antiplättchentherapie (DAPT) wurden in den letzten beiden Jahren präziser, sowohl bei KHK (nach perkutaner Koronarintervention PCI) (1, 2), als auch bei pAVK und cAVK (3). Die empfohlene Dauer der DAPT (vor der sich anschließenden Dauertherapie mit ASS) richtet sich – seit vielen Jahren weitgehend unverändert – nach dem Ischämierisiko (hoch nach akutem Koronarsyndrom - ACS) und dem Blutungsrisiko (hoch bei PRECISE-DAPT-Score ≥ 25). Das aktuell empfohlene Schema zeigt die Abb. 1.

Empfehlungen gemäß aktueller Leitlinienempfehlungen, neuer Studienergebnisse und eigener Erfahrung (die in Freiburger SOPs einging) (1, 3-5):

Tabelle 1 listet die aktuellen Empfehlungen zur Thrombozytenhemmung bei atherosklerotischen Erkrankungen auf, während Tabelle 2 die Empfehlungen nach Behandlung struktureller Herzerkrankungen beschreibt. Schließlich bietet Tabelle 3 einen Überblick über Situationen, in denen KEINE Thrombozytenhemmung erfolgen sollte. Die Empfehlungen beruhen auf aktuellen Leitlinien, berücksichtigen aber auch neuere Studienergebnisse und eigene Erfahrungen/Überlegungen, die in lokale Standardprozeduren in Freiburg eingingen. Alle Überlegungen sind in Einklang mit den Leitlinien, konkretisieren aber Behandlungsvorschläge in Bereichen mit ungenügender Evidenz.

Setting	Indikation	Definition	Empfehlung	Besonderheit
KHK	stabil	nachgewiesene relevante Koronarläsionen, Z.n. PCI, Z.n. Bypass	ASS 100 mg	<ul style="list-style-type: none"> bei Hochrisiko: ggf + Rivaroxaban 2x 2,5 mg bei Vollantikoagulation: kein ASS
	ACS	iAP, NSTEMI, STEMI	<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 12 Mon → dann ASS dauerhaft 	<ul style="list-style-type: none"> i.d.R. PCI, Anpassung gemäß Ischämie- und Blutungsrisiko bei Hochrisiko nach 12 Mon: ggf + Rivaroxaban 2x 2,5 mm
	elektive PCI	bei stabiler KHK	<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 6 Mon → dann ASS dauerhaft 	bei Hochrisiko nach 6 Mon: ggf + Rivaroxaban 2x 2,5 mm
pAVK	stabil	<i>symptomatische(!)</i> peripherarterielle Läsionen, Z.n. Angioplastie, Z.n. Bypass	Clopidogrel 75 mg dauerhaft	<ul style="list-style-type: none"> alternativ zu Clopidogrel: ASS 100 mg Bei Vollantikoagulation: kein Clopidogrel/ASS
	Angioplastie		<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 1 Mon → dann Clopidogrel dauerhaft 	
	Bypass peripher		<ul style="list-style-type: none"> Clopidogrel 75 mg dauerhaft alternativ: VKA 	
cAVK	stabil	nachgewiesene Karotisstenose, Z.n. Angioplastie, Z.n. Endarteriektomie	ASS dauerhaft	Bei Indikation zur Vollantikoagulation: kein ASS
	Carotisstent		<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 1 Mon → dann ASS dauerhaft 	
	Carotis-OP (TEA)		ASS dauerhaft	

Tab. 1: Empfehlungen zur Thrombozytenhemmung bei atherosklerotischen Erkrankungen. (nicht publiziert; auf aktuellen Leitlinien, neueren Studien und eigener Erfahrung beruhend (1-9)).

Antithrombotische Differenzialtherapie - Thrombozytenhemmung – Daniel Dürschmied

Setting	Indikation	Definition	Empfehlung	Besonderheit
Aortenklappe	TAVI	unabhängig vom Zugangsweg (transfemorale, transapikal, etc.)	<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 3-6 Mon → dann ASS dauerhaft 	KEIN NOAK (Kontraindikation für Rivaroxaban, andere Studien stehen aus)
	biologische Klappenprothese oder -rekonstruktion		ASS 3 Mon	<ul style="list-style-type: none"> alternativ: VKA für 1-3 Mon unklare Evidenz für ASS dauerhaft
Mitral- oder Trikuspidalklappe	MitraClip		<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 3 Mon → dann ASS dauerhaft 	bei Vorhofflimmern NOAK möglich (dann +Clopidogrel in den ersten 1-3 Monaten)
	biologische Klappenprothese oder -rekonstruktion		VKA für 3 Mon	<ul style="list-style-type: none"> unklare Evidenz für ASS dauerhaft bei Vorhofflimmern NOAK möglich
PFO	PFO-Verschluss	<ul style="list-style-type: none"> kryptogener Schlaganfall ≤60 Jahre 	<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 3 Mon → dann ASS dauerhaft 	
Vorhofflimmern	Vorhofuhr-Verschluss (LAAC)	<ul style="list-style-type: none"> hohes Embolierisiko UND hohes Blutungsrisiko 	<ul style="list-style-type: none"> DAPT für 1-6 Mon → dann ASS dauerhaft 	Alternativen: <ul style="list-style-type: none"> ASS nach Folge-TEE absetzen (z.B. nach 1 Mon) NOAK VKA

Tab. 2: Empfehlungen zur Thrombozytenhemmung nach der Behandlung von strukturellen Herzerkrankungen. (nicht publiziert; auf aktuellen Leitlinien, neueren Studien und eigener Erfahrung beruhend (1-9)).

Setting	Definition	Empfehlung	Besonderheit
Primärprophylaxe	Primärprophylaxe kardiovaskulärer Ereignisse (Myokardinfarkt, Schlaganfall) bei Menschen ohne nachgewiesene Manifestation einer Atherosklerose (selbst bei hohem kardiovaskulärem Risiko)	<ul style="list-style-type: none"> Statin mit Ziel-LDL-Cholesterin je nach Risiko Behandlung von Komorbiditäten (Diabetes mellitus, Hypertonie, Adipositas, etc.) 	unklar: wie ist mit Koronarstenosen umzugehen, die nicht interveniert werden? („ASS schon bei Wandunregelmäßigkeiten“ – „ASS ab 25% Stenose?“ – „ASS ab 50% Stenose“ – „ASS erst nach PCI“)
Asymptomatische pAVK	sofern keine Angioplastie oder Bypass	<ul style="list-style-type: none"> Statin mit Ziel-LDL-Cholesterin je nach Risiko Behandlung von Komorbiditäten (Diabetes mellitus, Hypertonie, Adipositas, etc.) 	Klasse-III-A-Empfehlung, d.h. mit guter Evidenz KEINE Thrombozytenhemmung empfohlen
Vorhofflimmern	<ul style="list-style-type: none"> unabhängig von Embolie- oder Blutungs-Risiko Ausnahme: Vorhofthrombus (LAAC) 	NOAK gemäß CHA ₂ DS ₂ -VASc (valvulär)	bei LAAC siehe dort
Venöse Thromboembolie	tiefen Venenthrombose und/oder Lungenembolie	<ul style="list-style-type: none"> NOAK für 1-12 Monate (bzw. dauerhaft nach Rezidiv) → danach Rivaroxaban oder Apixaban in halbiertem Dosierung 	
mechanische Herzklappenprothesen		VKA	
Herzunterstützungssysteme		VKA	

Tab. 3: Situationen in den **KEINE** Thrombozytenhemmung gegeben werden sollte. (nicht publiziert; auf aktuellen Leitlinien, neueren Studien und eigener Erfahrung beruhend (1-9)).

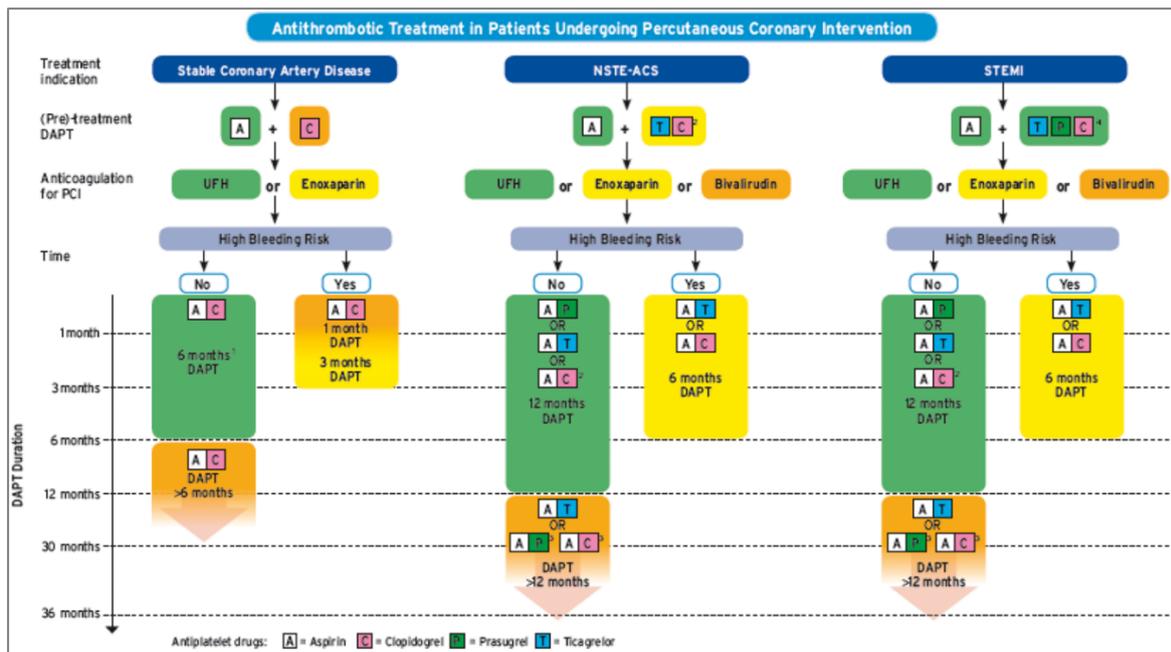


Abb. 1. Von der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) empfohlener Algorithmus um die Dauer der DAPT nach PCI festzulegen (grün: Klasse-I-Empfehlung „ist empfohlen“, gelb: Klasse-IIa „sollte erwogen werden“, orange: Klasse-IIb „kann erwogen werden“) (1).

Hohes Blutungsrisiko: PRECISE-DAPT ≥ 25 .

¹gilt für jegliche Art der PCI (DEB, BMS, DES).

²Clopidogrel sollte nur zum Einsatz kommen, wenn Parsugrel oder Ticagrelor nicht zur Verfügung stehen oder im Rahmen einer strukturierten Deeskalation.

³gemäß PEGASUS liegen die besten Daten für eine DAPT-Verlängerung mit Ticagrelor 2x 60 mg vor (6) (neu seit 2018 ist hier jedoch die Alternative mit kombinierter antithrombotischer Therapie mit ASS + Rivaroxaban 2x 2,5 mg gemäß COMPASS zugelassen (7))

⁴Vorbehandlung so früh wie möglich, spätestens jedoch zur PCI.

Besonderheiten bei Indikation zur Vollantikoagulation

Patienten mit Vorhofflimmern (gemäß CHA₂DS₂-VASc-Risiko) oder venöser Thromboembolie sollten mit NOAK in „voller“/zugelassener Dosierung behandelt werden. Wenn dann eine PCI oder peripherarterielle Intervention erfolgt, sollte eine antithrombotische Kombinationstherapie gegeben werden. Auch hierzu wurde der ESC-Algorithmus der Entscheidungsfindung 2018 aktualisiert – siehe Abb. 2A (1).

Die bislang publizierten, randomisierten Studien zur Frage, wie sich die in Subgruppen der Vorhofflimmerstudien und einer Vielzahl von Registern hohen Blutungsraten reduzieren lassen, sind PIONEER (Rivaroxaban) und RE-DUAL (Dabigatran) (8-10). Noch nicht publiziert sind die Daten von AGUSTUS (Apixaban) und ENTRUST (Edoxaban). Bislang zeigt sich aber deutlich, dass mit einer dualen Therapie bestehend aus Clopidogrel 75 mg und Rivaroxaban 15 mg oder Dabigatran 2x 150 mg Blutungen verhindert werden können, ohne dass es Signale für eine Zunahme thrombotischer Ereignisse gebe. Zu beachten ist dabei, dass keine der genannten Studien ähnlich stark gepowert ist, wie die Zulassungsstudien der NOAKs und somit eine Restunsicherheit bleibt, ob Schlaganfälle (und Myokardinfarkte) auch ähnlich effektiv verhindert werden wie mit der vollen Vorhofflimmerdosis (Rivaroxaban 20 mg), bzw. mit verlängerter DAPT

(die nur periinterventionell durchgeführt wurde). Ein vereinfachtes Schema zeigt die Abb. 2B.

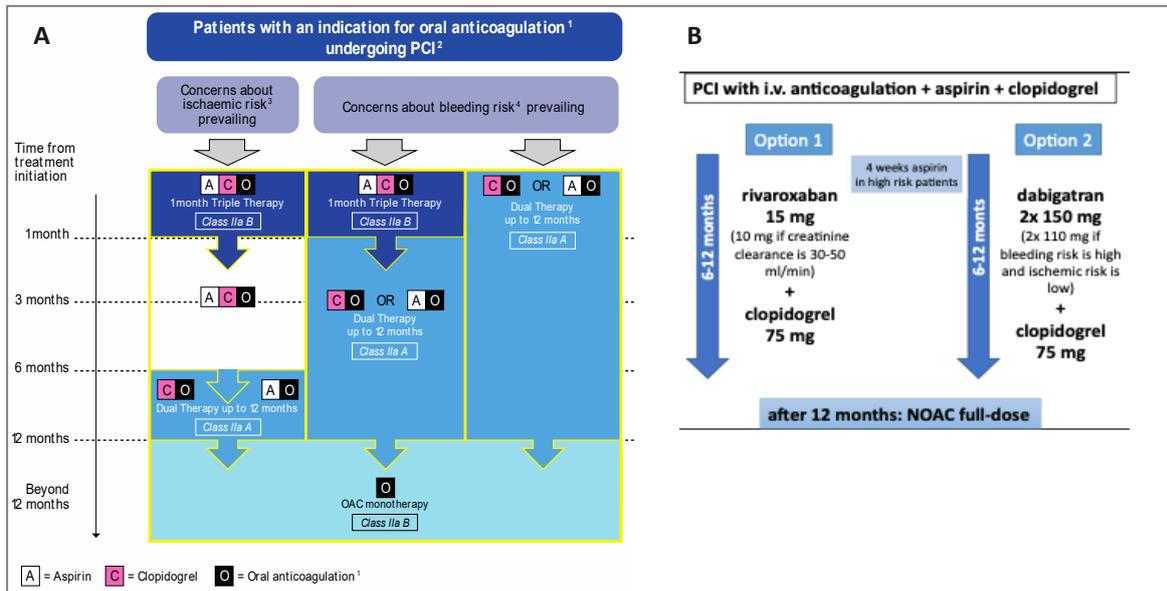


Abb. 2. A) Von der ESC empfohlener Algorithmus für Art und Dauer der antithrombotischen Kombinationstherapie für Patienten mit Indikation für eine Vollantikoagulation (1) B) mit den aktuell durch randomisierte Studien untersuchten Kombinationen (8).

¹primär NOAK bei nicht-valvulärem VHF

²immer peri-prozedural ASS und Clopidogrel

³Ischämierisiko hoch nach ACS und bei anatomischen/prozeduralen Besonderheiten

⁴Blutungsrisiko gemäß HAS-BLED- oder ABC-Score

Hochrisikopatienten mit atherosklerotischer Erkrankung

Patienten mit einer Manifestation von Atherosklerose, sei es koronar, peripher oder zerebrovaskulär, erleiden häufig einen Herzinfarkt oder Schlaganfall. Unter diesen sind es die Hochrisikopatienten, die am stärksten von einer besonders intensiven Therapie profitieren. Hochrisikopatienten zu identifizieren bleibt Teil der „ärztlichen Kunst“, weil es keine einheitliche Definition gibt und klinische Studien unterschiedliche Kriterien zugrunde gelegt haben.

DAPT

Mehrfach wurde eine Verlängerung der DAPT untersucht. Die DAPT-Studie zeigte, dass 30 Monate nach Myokardinfarkt eine DAPT mit ASS und Clopidogrel oder Prasugrel Stentthrombosen und Reinfarkte verhinderte, Blutungen aber häufiger waren und sogar die Gesamtletalität zunahm (11). In PEGASUS hingegen konnten mit einer DAPT-Verlängerung um bis zu 3 Jahre mit Ticagrelor in reduzierter Dosierung (2 x 60 mg) kardiovaskuläre Ereignisse im Vergleich zu Placebo verhindert werden (HR 0,84, 95 %-CI 0,74–0,95, p = 0,004, NNT = 79) (6). Die Gesamtletalität wurde jedoch nicht beeinflusst. Schwere Blutungen waren nach 3 Jahren mit 2x 90 mg 2,7-fach erhöht (NNH = 65) und

mit 2x 60 mg 2,3-fach (NNH = 81). Weil die verlängerte DAPT die Gesamtsterblichkeit nicht senken konnte, wird sie einzelnen Fällen vorbehalten bleiben. Kombinierte antithrombotische Therapie („COMPASS-Schema“)

Die COMPASS-Studie verglich die Kombination aus ASS + Rivaroxaban 2 x 2,5 mg mit Rivaroxaban 2 x 5 mg (ohne Plättchenhemmer) und ASS alleine bei 27 395 mit stabiler atherosklerotischer Erkrankung (7). Das Ausmaß der Erkrankung war fortgeschritten (Mehrfäßkrankung, stattgehabter Myokardinfarkt) und das kardiovaskuläre Risiko war durch folgende Kriterien definiert: entweder Alter \geq 65 Jahre oder mindestens 2 Risikofaktoren (Rauchen, Diabetes mellitus, Kreatinin-Clearance $<$ 60 ml/min, Herzinsuffizienz NYHA I/II oder stattgehabter ischämischer Schlaganfall). Eine schwere Herzinsuffizienz NYHA III/IV (bzw. Ejektionsfraktion $<$ 30 %), ein frischer Schlaganfall, ein hohes Blutungsrisiko (nach Einschätzung durch den Studienarzt), eine Indikation für DAPT oder therapeutische Antikoagulation und eine terminale Niereninsuffizienz (Kreatinin-Clearance $<$ 15 ml/min) waren Ausschlusskriterien. Die Regulationsbehörden forderten eine Ausweitung des Sicherheitsendpunktes schwere Blutung nach Definition der ISTH auf „jede Blutung, die medizinisch behandelt werden musste“ (ambulanter chirurgischer Eingriff oder Hospitalisierung). So sollte sichergestellt werden, dass alle relevanten Blutungen erfasst werden.

Der Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse wurde von 5,4 % mit ASS auf 4,1 % mit ASS + Rivaroxaban 2x 2,5 mg reduziert (HR 0,76, 95 %-CI 0,66–0,86, $p <$ 0,001, NNT = 77). Die Gesamtl mortalität wurde von 4,1 % mit ASS auf 3,4 % mit ASS + Rivaroxaban 2x 2,5 mg reduziert (HR 0,82, 95 %-CI 0,71–0,96, $p =$ 0,01, NNT = 143). Ischämische Schlaganfälle wurden von 1,4 % mit ASS auf 0,7 % mit ASS/Rivaroxaban reduziert (HR 0,51, 95 %-CI 0,38–0,68, $p <$ 0,001, NNT = 143). Ob diese Ereignisse bei Patienten mit Karotisstenosen auftraten oder doch kardioembolisch bedingt waren, ist noch unklar. Eine Indikation zur oralen Antikoagulation wie z. B. Vorhofflimmern lag aber in keinem Fall vor, denn dies war ein Ausschlusskriterium.

Die Häufigkeit schwerer Blutungen (nach modifizierter ISTH-Definition) nahm von 1,9 % mit ASS auf 3,1 % mit ASS + Rivaroxaban 2 x 2,5 mg zu (HR 1,70, 95 %-CI 1,40–2,05, $p <$ 0,001, NNH = 83). Die Hälfte dieser Blutungen war gastrointestinal lokalisiert. Tödliche Blutungen waren selten und nicht signifikant unterschiedlich: 0,1 % mit ASS und 0,2 % mit ASS + Rivaroxaban 2 x 2,5 mg (HR 1,49, 95 %-CI 0,67–3,33, $p =$ 0,32, NNH = 1 000). Intrakranielle Blutungen waren mit 0,3 % in beiden Armen gleich häufig. Ein kombinierter Endpunkt, der einen Nettonutzen für die Patienten untersuchte (kardiovaskulärer Tod, Schlaganfall, Myokardinfarkt, tödliche Blutung und symptomatische Blutung in ein kritisches Organ) wurde von 5,9 % mit ASS auf 4,7 % mit ASS + Rivaroxaban 2x 2,5 mg reduziert (HR 0,80, 95 %-CI 0,70–0,91, $p <$ 0,001, NNT = 83). Rivaroxaban 2x 5 mg ohne Plättchenhemmer wird in der Dauertherapie von KHK und pAVK keine Rolle spielen, denn kardiovaskuläre Ereignisse konnten so nicht verhindert werden, während das Blutungsrisiko anstieg.

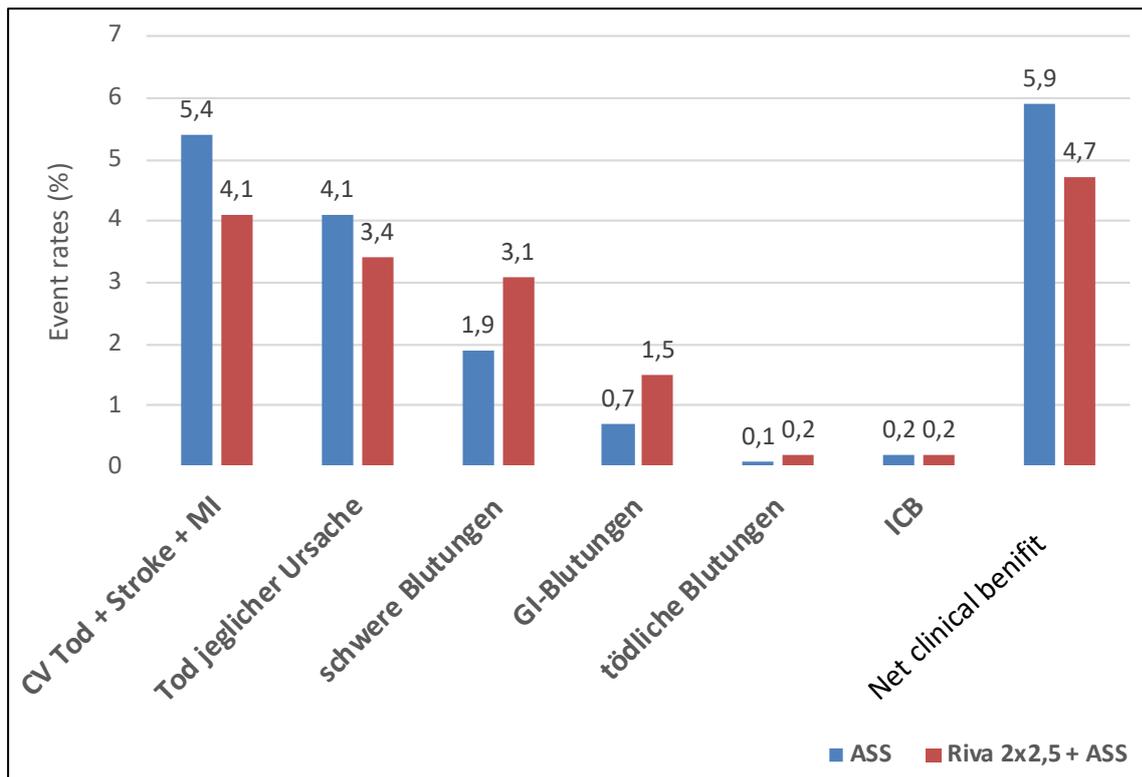


Abb. 3. Ergebnisse des Vergleichs ASS 100 mg versus ASS 100 mg + Rivaroxaban 2x 2,5 mg bei Hochrisikopatienten in der COMPASS-Studie (7).

CV – kardiovaskulär, MI – Myokardinfarkt, GI – gastrointestinal, schwere Blutung – gemäß modifizierter ISTH-Definition, ICB – intrakranielle Blutung, Net clinical benefit: CV Tod + Stroke + MI + tödliche Blutung und symptomatische Blutung in ein kritisches Organ

Highlight 1: ARRIVE – Primärprophylaxe mit ASS bei moderat erhöhtem CV

Risiko

Gaziano JM, Brotons C, Coppolecchia R, Cricelli C, Darius H, Gorelick PB, Howard G, Pearson TA, Rothwell PM, Ruilope LM, Tendera M, Tognoni G, ARRIVE Executive Committee. Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2018; 392 (10152): 1036-1046.

(12)

Hintergrund

Der Nutzen der Primärprophylaxe mit ASS bleibt unklar. Dennoch erfolgt ein häufiger Einsatz von ASS (auch in Leitlinien empfohlen) anhand des errechneten CV Risikos (oft eingesetzte Risikoscores: ASCVD risk score, European SCORE, Framingham Risk Score, PROCAM (13)).

Methodik

„Gesunde“ Menschen über 55 Jahre (Männer), bzw. 60 Jahre (Frauen) mit moderat erhöhtem, errechneten CV Risiko erhielten randomisiert ASS 100 mg (enterisch gekapselt, wie Aspirin protect) oder Placebo. Ein erhöhtes Blutungsrisiko war ein Ausschlusskriterium.

Ergebnisse

12 546 Teilnehmer wurden über 60 Monate (im Median) untersucht. Der primäre Endpunkt (CV Tod, Myokardinfarkt, iAP, Stroke, TIA) trat bei 4,29% mit ASS versus 4,48% mit Placebo auf (hazard ratio [HR] 0.96; 95% CI 0.81-1.13; p=0.6038, Abb. 4). Gastrointestinale Blutungen (überwiegend mild) traten in 0,97% mit ASS versus 0,46% mit Placebo auf (HR 2.11; 95% CI 1.36-3.28; p=0.0007). Es kam zu ähnlichen vielen Todesfällen: 2,55% mit ASS versus 2,57% mit Placebo.

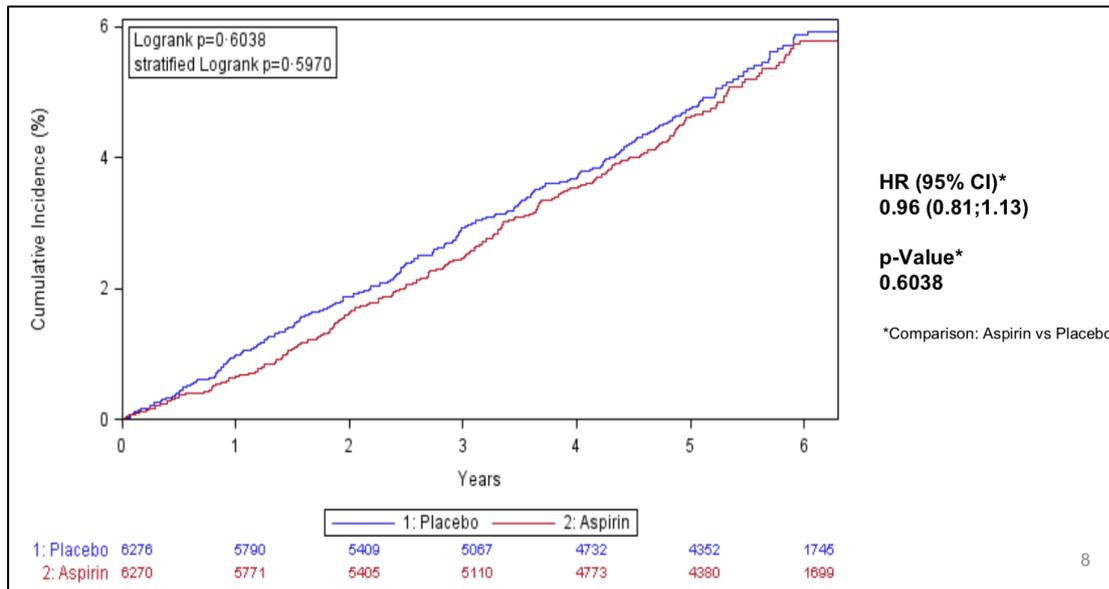


Abb. 4. Ergebnisse des Vergleichs ASS 100 mg versus Placebo bei Menschen ohne Atherosklerose mit mittleren CV Risiko in der ARRIVE-Studie (12).

Bedeutung für die klinische Praxis

Kein Nutzen von ASS 100 mg in der Primärprophylaxe CV Ereignisse bei Menschen mit moderatem CV Risiko (entsprechend der registrierten Ereignisrate über 6 Jahre eher Niedrigrisikokollektiv entsprechend). Kein Mortalitätsvorteil. GI-Blutungen verdoppelt.

Highlight 2: ASCEND – Primärprophylaxe mit ASS bei Diabetes mellitus

ASCEND Study Collaborative Group, Bowman L, Mafham M, Wallendszus K, Stevens W, Buck G, Barton J, Murphy K, Aung T, Haynes R, Cox J, Murawska A, Young A, Lay M, Chen F, Sammons E, Waters E, Adler A, Bodansky J, Farmer A, McPherson R, Neil A, Simpson D, Peto R, Baigent C, Collins R, Parish S, Armitage J. Effects of Aspirin for Primary Prevention in Persons with Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 2018; 379 (16): 1529-1539

(14)

Hintergrund

Nutzen der Primärprophylaxe mit ASS bei Patienten mit Diabetes mellitus unklar.

Methodik

Patienten über 40 Jahre mit Diabetes mellitus aber ohne Atherosklerose (weder KHK, noch pAVK oder cAVK) erhielten randomisiert ASS 100 mg oder Placebo.

Ergebnisse

15 480 Patienten wurden über 7,4 Jahre (im Mittel) untersucht. Der primäre Endpunkt (CV Tod, Myokardinfarkt, Stroke, TIA - ohne intrakranielle Blutung) trat in 8,5% mit ASS und 9,6% mit Placebo auf (HR 0.88; 95%-CI 0.79-0.97; P=0.01, Abb. 5). Schwere Blutungen (intrakraniell, Augenlicht-bedrohend, gastrointestinal, Hospitalisierung oder Transfusion bedingend oder tödlich) traten in 4,1% mit ASS und 3,2% mit Placebo auf (HR 1,29; 95% CI, 1.09-1.52; P=0.003). Überwiegend waren dies gastrointestinale und andere extrakranielle Blutungen. GI-Trakt-Krebs wurde in 2,0% in beiden Gruppen festgestellt (jegliche Krebsarte: 11,6% mit ASS und 11,5% mit Placebo).

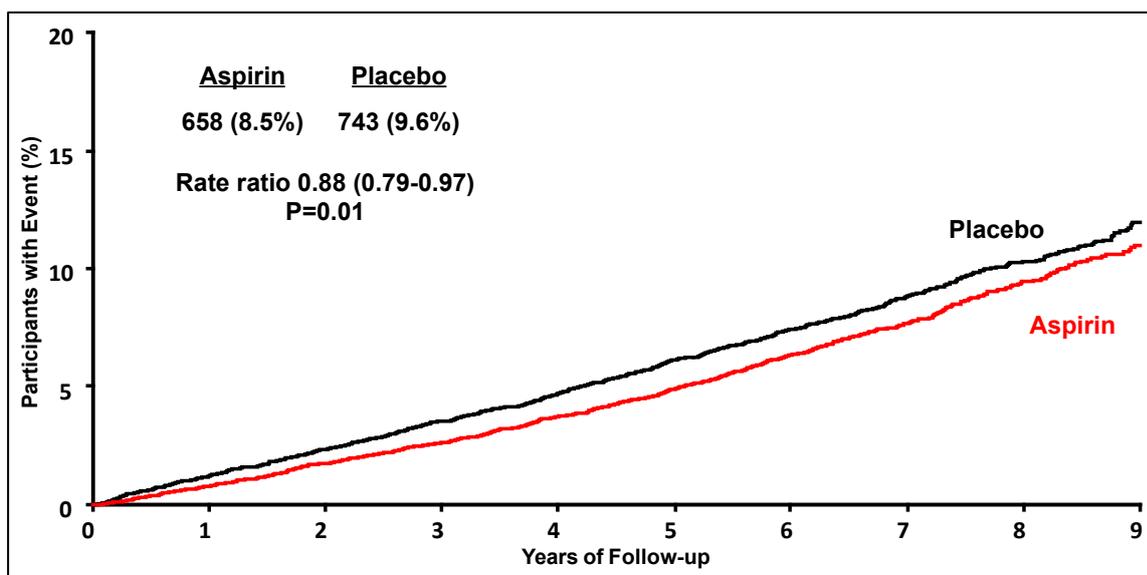


Abb. 5. Ergebnisse des Vergleichs ASS 100 mg versus Placebo bei Patienten mit Diabetes mellitus in der ASCEND-Studie (14).

Bedeutung für die klinische Praxis

Kein Nutzen von ASS 100 mg in der Primärprophylaxe CV Ereignisse oder Krebs bei Patienten mit Diabetes mellitus. Klinisch relevante, schwere Blutungen von 3,2% mit Placebo auf 4,1% mit ASS angestiegen.

Highlight 3: ASPREE – Primärprophylaxe mit ASS bei älteren Menschen

McNeil JJ, Wolfe R, Woods RL, Tonkin AM, Donnan GA, Nelson MR, Reid CM, Lockery JE, Kirpach B, Storey E, Shah RC, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Johnston CI, Ryan J, Radziszewska B, Jelinek M, Malik M, Eaton CB, Brauer D, Cloud G, Wood EM, Mahady SE, Satterfield S, Grimm R, Murray AM; ASPREE Investigator Group. Effect of Aspirin on Cardiovascular Events and Bleeding in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018; 379 (16): 1509-1518.

(15)

McNeil JJ, Woods RL, Nelson MR, Reid CM, Kirpach B, Wolfe R, Storey E, Shah RC, Lockery JE, Tonkin AM, Newman AB, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Donnan GA, Gibbs P, Johnston CI, Ryan J, Radziszewska B, Grimm R, Murray AM; ASPREE Investigator Group. Effect of Aspirin on Disability-free Survival in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018 Oct 18;379(16):1499-1508.

(16)

McNeil JJ, Nelson MR, Woods RL, Lockery JE, Wolfe R, Reid CM, Kirpach B, Shah RC, Ives DG, Storey E, Ryan J, Tonkin AM, Newman AB, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Donnan GA, Gibbs P, Johnston CI, Radziszewska B, Grimm R, Murray AM; ASPREE Investigator Group. Effect of Aspirin on All-Cause Mortality in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018 Oct 18;379(16):1519-1528.

(17)

Hintergrund

Nutzen der Primärprophylaxe mit ASS auch bei älteren Menschen unklar.

Methodik

Patienten über 70 Jahre ohne Atherosklerose (weder KHK, noch pAVK oder cAVK), Demenz oder Behinderung erhielten randomisiert ASS 100 mg oder Placebo.

Ergebnisse

19 114 ältere Menschen wurden über 4,7 Jahre (im Median) untersucht. Der primäre Endpunkt (Tod, Demenz, persistierende physische Behinderung) trat in 9,67% mit ASS und 9,53% mit Placebo auf (HR 1.01, 95%-CI 0.92–1.11, $p=0.79$). Der sekundäre Endpunkt CV Ereignisse (CV Tod, KHK, Myokardinfarkt, Stroke, Hospitalisierung wegen Herzinsuffizienz) trat in 4,70% mit ASS und 4,94% mit Placebo auf (HR 0,95, 95%-CI 0,83–1,08, Abb 6)). Schwere Blutungen (intrakraniell, Hospitalisierung, Transfusion oder OP bedingen, tödlich) traten in 3,79% mit ASS und 2,76% mit Placebo auf (HR 1.38, 95%-CI 1.18–1.62, $p<0.001$). Die Gesamtmortalität lag bei 5,9% mit ASS und 5,2% mit Placebo (HR 1.14, 95%-CI 1.01–1.29. Es traten insbesondere mehr Krebs-assoziierte Todesfälle mit ASS auf, was ein unerwartetes und in Konflikt mit anderen Daten stehendes Ergebnis ist.

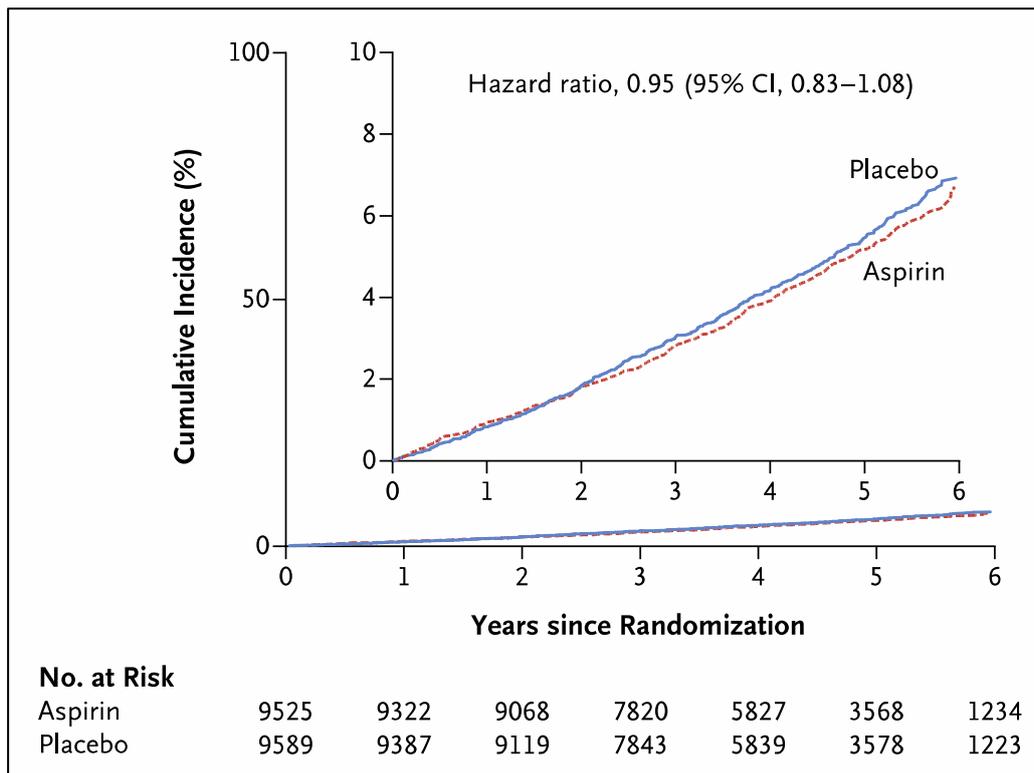


Abb. 6. Ergebnisse des Vergleichs ASS 100 mg versus Placebo bei älteren Menschen in der ASPREE-Studie (15).

Bedeutung für die klinische Praxis

Kein Nutzen von ASS 100 mg in der Primärprophylaxe CV Ereignisse für ältere Menschen.
Schwere Blutungen von 2,8% mit Placebo auf 3,8% mit ASS angestiegen.

Literatur

1. Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, Alfonso F, Banning AP, Benedetto U, Byrne RA, Collet JP, Falk V, Head SJ, Juni P, Kastrati A, Koller A, Kristensen SD, Niebauer J, Richter DJ, Seferovic PM, Sibbing D, Stefanini GG, Windecker S, Yadav R, Zembala MO, Group ESCSD. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*. 2018.
2. Valgimigli M, Bueno H, Byrne RA, Collet JP, Costa F, Jeppsson A, Juni P, Kastrati A, Kolh P, Mauri L, Montalescot G, Neumann FJ, Petricevic M, Roffi M, Steg PG, Windecker S, Zamorano JL, Levine GN, Group ESCSD, Guidelines ESCCfP, Societies ESCNC. 2017 ESC focused update on dual antiplatelet therapy in coronary artery disease developed in collaboration with EACTS: The Task Force for dual antiplatelet therapy in coronary artery disease of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J*. 2017.
3. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink MEL, Bjorck M, Brodmann M, Cohnert T, Collet JP, Czerny M, De Carlo M, Debus S, Espinola-Klein C, Kahan T, Kownator S, Mazzolai L, Naylor AR, Roffi M, Rother J, Sprynger M, Tendera M, Tepe G, Venermo M, Vlachopoulos C, Desormais I, Group ESCSD. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur Heart J*. 2018; 39 (9): 763-816.
4. Baumgartner H, Falk V, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ, Iung B, Lancellotti P, Lansac E, Rodriguez Munoz D, Rosenhek R, Sjogren J, Tornos Mas P, Vahanian A, Walther T, Wendler O, Windecker S, Zamorano JL, Group ESCSD. 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *Eur Heart J*. 2017; 38 (36): 2739-2791.
5. Al Said S, Bode C, Duerschmied D. Anticoagulation in Atherosclerotic Disease. *Hamostaseologie*. 2018; 38 (4): 240-246.
6. Bonaca MP, Bhatt DL, Cohen M, Steg PG, Storey RF, Jensen EC, Magnani G, Bansilal S, Fish MP, Im K, Bengtsson O, Oude Ophuis T, Budaj A, Theroux P, Ruda M, Hamm C, Goto S, Spinar J, Nicolau JC, Kiss RG, Murphy SA, Wiviott SD, Held P, Braunwald E, Sabatine MS, Committee P-TS, Investigators. Long-term use of ticagrelor in patients with prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2015; 372 (19): 1791-1800.
7. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar AK, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Stork S, Keltai M, Ryden L, Pogosova N, Dans AL, Lanas F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim JH, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusuf K, Steg PG, Metsarinne KP, Cook Bruns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S, Investigators C. Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 377 (14): 1319-1330.
8. Duerschmied D, Brachmann J, Darius H, Frey N, Katus HA, Rottbauer W, Schafer A, Thiele H, Bode C, Zeymer U. Antithrombotic therapy in patients with non-valvular atrial fibrillation undergoing percutaneous coronary intervention: should we change our practice after the PIONEER AF-PCI and RE-DUAL PCI trials? *Clin Res Cardiol*. 2018; 107 (7): 533-538.
9. Gibson CM, Mehran R, Bode C, Halperin J, Verheugt FW, Wildgoose P, Birmingham M, Janus J, Burton P, van Eickels M, Korjian S, Daaboul Y, Lip GY, Cohen M, Husted S, Peterson ED, Fox KA. Prevention of Bleeding in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing PCI. *N Engl J Med*. 2016; 375 (25): 2423-2434.
10. Cannon CP, Bhatt DL, Oldgren J, Lip GYH, Ellis SG, Kimura T, Maeng M, Merkely B, Zeymer U, Gropper S, Nordaby M, Kleine E, Harper R, Manassie J, Januzzi JL, Ten Berg JM, Steg PG, Hohnloser SH, Investigators R-DPSCa. Dual Antithrombotic Therapy with Dabigatran after PCI in Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*. 2017; 377 (16): 1513-1524.
11. Mauri L, Kereiakes DJ, Yeh RW, Driscoll-Shempp P, Cutlip DE, Steg PG, Normand SL, Braunwald E, Wiviott SD, Cohen DJ, Holmes DR, Jr., Krucoff MW, Hermiller J, Dauerman HL, Simon DI, Kandzari DE, Garratt

KN, Lee DP, Pow TK, Ver Lee P, Rinaldi MJ, Massaro JM, Investigators DS. Twelve or 30 months of dual antiplatelet therapy after drug-eluting stents. *N Engl J Med*. 2014; 371 (23): 2155-2166.

12. Gaziano JM, Brotons C, Coppolecchia R, Cricelli C, Darius H, Gorelick PB, Howard G, Pearson TA, Rothwell PM, Ruilope LM, Tendera M, Tognoni G, Committee AE. Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018; 392 (10152): 1036-1046.

13. Goff DC, Jr., Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, Greenland P, Lackland DT, Levy D, O'Donnell CJ, Robinson JG, Schwartz JS, Shero ST, Smith SC, Jr., Sorlie P, Stone NJ, Wilson PW, Jordan HS, Nevo L, Wnek J, Anderson JL, Halperin JL, Albert NM, Bozkurt B, Brindis RG, Curtis LH, DeMets D, Hochman JS, Kovacs RJ, Ohman EM, Pressler SJ, Sellke FW, Shen WK, Smith SC, Jr., Tomaselli GF, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice G. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2014; 129 (25 Suppl 2): S49-73.

14. Group ASC, Bowman L, Mafham M, Wallendszus K, Stevens W, Buck G, Barton J, Murphy K, Aung T, Haynes R, Cox J, Murawska A, Young A, Lay M, Chen F, Sammons E, Waters E, Adler A, Bodansky J, Farmer A, McPherson R, Neil A, Simpson D, Peto R, Baigent C, Collins R, Parish S, Armitage J. Effects of Aspirin for Primary Prevention in Persons with Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 2018; 379 (16): 1529-1539.

15. McNeil JJ, Wolfe R, Woods RL, Tonkin AM, Donnan GA, Nelson MR, Reid CM, Lockery JE, Kirpach B, Storey E, Shah RC, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Johnston CI, Ryan J, Radziszewska B, Jelinek M, Malik M, Eaton CB, Brauer D, Cloud G, Wood EM, Mahady SE, Satterfield S, Grimm R, Murray AM, Group AI. Effect of Aspirin on Cardiovascular Events and Bleeding in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018; 379 (16): 1509-1518.

16. McNeil JJ, Woods RL, Nelson MR, Reid CM, Kirpach B, Wolfe R, Storey E, Shah RC, Lockery JE, Tonkin AM, Newman AB, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Donnan GA, Gibbs P, Johnston CI, Ryan J, Radziszewska B, Grimm R, Murray AM, Group AI. Effect of Aspirin on Disability-free Survival in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018; 379 (16): 1499-1508.

17. McNeil JJ, Nelson MR, Woods RL, Lockery JE, Wolfe R, Reid CM, Kirpach B, Shah RC, Ives DG, Storey E, Ryan J, Tonkin AM, Newman AB, Williamson JD, Margolis KL, Ernst ME, Abhayaratna WP, Stocks N, Fitzgerald SM, Orchard SG, Trevaks RE, Beilin LJ, Donnan GA, Gibbs P, Johnston CI, Radziszewska B, Grimm R, Murray AM, Group AI. Effect of Aspirin on All-Cause Mortality in the Healthy Elderly. *N Engl J Med*. 2018; 379 (16): 1519-1528.

Antikoagulation

PD Dr. Jan Beyer-Westendorf

Medizinische Klinik 1, Bereich Hämatologie und Hämostaseologie

Universitätsklinikum „Carl Gustav Carus“, Technische Universität Dresden

E-Mail: jan.beyer@uniklinikum-dresden.de

State of the Art	3
Highlight 1: Die Leitlinien der <i>European Heart Rhythm Association</i> zu Non-Vitamin-K-Antagonisten bei Patienten mit Vorhofflimmern	4
Highlight 2: Niedrig dosierte Antikoagulation zusätzlich zur Thrombozytenhemmung bei Patienten mit stabiler koronarer oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit – die COMPASS Studie	5
Highlight 3: Antikoagulation oder Thrombozytenhemmung bei Patienten mit embolischem Hirninfarkt unklarer Ursache (<i>embolic stroke of unknown source, ESUS</i>). Die NAVIGATE-ESUS-Studie	9
Highlight 4: moderne Antikoagulation bei Patienten mit Antiphospholipid-Antikörpersyndrom – VKA oder das DOAK Rivaroxaban?	11
Literatur	14

State of the Art

Patienten mit plasmatischen Gerinnungsstörungen, arteriellen oder venösen Thromboembolien, Gefäßrekonstruktionen, mechanischem Herzklappenersatz oder Vorhofflimmern benötigen in aller Regel eine Hemmung der plasmatischen Gerinnung und damit eine temporäre oder dauerhafte Antikoagulation.

Dafür stehen direkt und indirekt wirkende, intravenös, subkutan oder oral zu applizierende Medikamente zur Verfügung, welche sich in der Indikationsstellung, den Dosierintervallen, den pharmakologischen Charakteristika (z.B. Wirkeintritt, Halbwertszeit, Metabolismus, Interaktionspotential), vor allem aber in Wirkung und Nebenwirkung zum Teil erheblich unterscheiden. Daher ist für den Anwender eine genaue Kenntnis der jeweiligen Besonderheiten essentiell, um diesen Hochrisikopatienten nach sorgfältigen differentialtherapeutischen Überlegungen die für die jeweilige Situation optimale Therapiealternative auszuwählen.

Die im Rahmen dieser Übersichtsarbeit vorgestellten Publikationen der letzten 2 Jahre sollen helfen, für ausgewählte Patienten und besondere klinische Situationen eine Orientierung zu geben.

Highlight 1: Die Leitlinien der *European Heart Rhythm Association* zu Non-Vitamin-K-Antagonisten bei Patienten mit Vorhofflimmern

Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, Albaladejo P, Antz M, Desteghe L, Haeusler KG, Oldgren J, Reinecke H, Roldan-Schilling V, Rowell N, Sinnaeve P, Collins R, Camm AJ, Heidbuchel H. The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2018; 39 (16): 1330-1393.

(1)

Ein Paradebeispiel für differentialtherapeutische Abwägungen ist das Thema „Antikoagulation bei Vorhofflimmern (VHF)“ welches mit der Einführung der direkten, nicht-Vitamin-K antagonistierenden oralen Antikoagulantien (DOAK oder NOAK) vor nunmehr 10 Jahren eine Renaissance erlebt hat. Heute werden wesentlich mehr VHF-Patienten antikoaguliert als noch vor 10 Jahren, da die DOAKs sicherer und einfacher zu handhaben sind als die bis dahin einzige Option der Vitamin-K-Antagonisten (VKA), weshalb die Therapie auf Patienten ausgeweitet wird, welche früher für eine Behandlung mit VKA ungeeignet waren. Die derzeit am Markt befindlichen 4 DOAKs unterscheiden sich aber nicht unerheblich in den pharmakologischen Eigenschaften und den darauf aufbauenden Dosierempfehlungen, weshalb es ausführliche Expertenempfehlungen gibt, wie diese Medikamente einzusetzen und worauf zu achten ist. Das aus Sicht des Autors wichtigste dieser Dokumente ist das 2018er update des 2013 erstmals erschienenen *Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation* der European Heart Rhythm Association und damit ein hier kurz zu besprechendes Highlight für alle hämostaseologisch interessierten Kollegen und DOAK Anwender. In diesem update, erschienen im April 2018 im European Heart Journal finden sich

- Eine Darstellung der aktuellen Indikationen und Kontraindikationen für DOAKs
- Ein Kapitel zu „Choosing the type and dose of non-vitamin K antagonist oral anticoagulant“
- Eine Empfehlung für eine strukturierte Nachsorge mit einer detaillierten Checkliste
- Empfehlungen, wie ein Wechsel zwischen Antikoagulantien (generelle Umstellungen oder perioperative Pausierungen) durchgeführt werden sollte
- Eine Übersicht zu den pharmakologischen Charakteristika
- Eine 7-seitige Tabelle zu den bekannten DOAK-Medikamenteninteraktionen mit entsprechenden Handlungsempfehlungen
- Empfehlungen zum Umgang mit DOAKs bei Nieren- oder Leberinsuffizienz
- Empfehlungen zum Management von Blutungskomplikationen und vieles mehr.

Highlight 2: Niedrig dosierte Antikoagulation zusätzlich zur Thrombozytenhemmung bei Patienten mit stabiler koronarer oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit – die COMPASS Studie

Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar AK, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Stork S, Keltai M, Ryden L, Pogossova N, Dans AL, Lanan F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim JH, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusuf K, Steg PG, Metsarinne KP, Cook Bruns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S, COMPASS Investigators. Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 377 (14): 1319-1330.

(2)

Connolly SJ, Eikelboom JW, Bosch J, Dagenais G, Dyal L, Lanan F, Metsarinne K, O'Donnell M, Dans AL, Ha JW, Parkhomenko AN, Avezum AA, Lonn E, Lisheng L, Torp-Pedersen C, Widimsky P, Maggioni AP, Felix C, Keltai K, Hori M, Yusuf K, Guzik TJ, Bhatt DL, Branch KRH, Cook Bruns N, Berkowitz SD, Anand SS, Varigos JD, Fox KAA, Yusuf S. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable coronary artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2018; 391 (10117): 205-218.

(3)

Anand SS, Bosch J, Eikelboom JW, Connolly SJ, Diaz R, Widimsky P, Aboyans V, Alings M, Kakkar AK, Keltai K, Maggioni AP, Lewis BS, Stork S, Zhu J, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Commerford PJ, Vinereanu D, Pogossova N, Ryden L, Fox KAA, Bhatt DL, Misselwitz F, Varigos JD, Vanassche T, Avezum AA, Chen E, Branch K, Leong DP, Bangdiwala SI, Hart RG, Yusuf S. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable peripheral or carotid artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2018; 391 (10117): 219-229.

(4)

Hintergrund

Seit Jahrzehnten stellen Thrombozytenhemmer die wichtigste Therapie in der Verhinderung arterieller Ereignisse bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit (KHK) oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit (PAVK) dar. Trotz verschiedener Optionen (ASS, Clopidogrel, Ticlopidin, Ticagrelor oder deren Kombinationen) ist die Rate sekundärer arterieller Gefäßverschlüsse (manifest als Myokardinfarkt, akute oder chronische Extremitätenischämie, mesenterialer Gefäßverschluss oder ischämischer Schlaganfall) bei dieser Population höher als in der Normalbevölkerung, so dass eine weitere Optimierung der Sekundärprävention eine hohe Priorität hat, wenn die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität gesenkt werden soll. In Studien zum akuten Koronarsyndrom hat eine niedrig dosierte Antikoagulation mit Rivaroxaban (2 x 2,5 mg) zusätzlich zur Thrombozytenhemmung eine Reduktion der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität erreichen können (ATLAS-Studien). Daraus wurde die Frage abgeleitet, ob dieses Konzept auch zu einer verbesserten Sekundärprävention bei Patienten mit stabiler koronarer oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit erfolgreich sein würde.

Methodik

- Internationale doppelblinde, randomisierte Multizenterstudie (33 Länder, 602 Zentren)
- Einschluss von Patienten mit stabiler KHK (Myokardinfarkt in den letzten 20 Jahren, Mehrgefäßerkrankung, stabile oder instabile Angina, Mehrgefäßkoronarinterventionen oder Bypass-OP) oder von Patienten mit PAVK (Bypass oder Angioplastie, Fußamputation, Claudicatio intermittens mit Reduktion des Cruro-brachialen Quotienten, oder Patienten mit relevanter Karotisstenose (Stenosegrad > 50% oder nach stattgehabter Karotisrevaskularisation)
- 1:1:1- Randomisierung für Rivaroxaban 2x 2-5 mg/d plus Aspirin (100 mg/d) vs. Rivaroxaban-Monotherapie 2 x 5 mg/d vs. Aspirin-Monotherapie (100 mg/d)
- Primärer Endpunkt war eine Kombination aus kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall, oder MALE (major adverse limb events) inkl. Majoramputationen

Ergebnisse für alle Patienten

- Einschluss von 27395 Patienten mit stabiler KHK und/oder PAVK
- Signifikante Reduktion des primären Endpunktes (4.1% für Rivaroxaban + ASS vs. 5.4% für ASS mono; HR 0.76; 95%CI 0.66-0.86)
- Signifikante Steigerung der Rate schwerer Blutungen (3.1% für Rivaroxaban + ASS vs. 1.9% für ASS mono; HR 1.70; 95% CI 1.40-2.05)
- Kein Unterschied für intrakranielle oder tödliche Blutungen
- Signifikante Reduktion der Gesamtsterblichkeit (3.4% für Rivaroxaban + ASS vs. 4.1% für ASS mono; HR 0.82; 95% CI 0.71-0.96)
- Kein signifikanter Nutzen der Rivaroxaban-Monotherapie gegenüber ASS aber Steigerung der Blutungen

Ergebnisse für KHK-Patienten

- Signifikante Reduktion des primären Endpunktes (4% für Rivaroxaban + ASS vs. 6% für ASS mono; HR 0.74; 95%CI 0.65-0.86)
- Signifikante Steigerung der Rate schwerer Blutungen (3% für Rivaroxaban + ASS vs. 2% für ASS mono; HR 1.66; 95% CI 1.37-2.03)
- Kein Unterschied für intrakranielle oder tödliche Blutungen
- Signifikante Reduktion der Gesamtsterblichkeit (3% für Rivaroxaban + ASS vs. 4% für ASS mono; HR 0.77; 95% CI 0.65-0.90)

- Kein signifikanter Nutzen der Rivaroxaban-Monotherapie gegenüber ASS aber Steigerung der Blutungen

Ergebnisse für PAVK-Patienten

- Signifikante Reduktion des primären Endpunktes (5% für Rivaroxaban + ASS vs. 7% für ASS mono; HR 0.72; 95%CI 0.57-0.90)
- Signifikante Reduktion der MALE (1% für Rivaroxaban + ASS vs. 2% für ASS mono; HR 0.54 (95%CI 0.35-0.82)
- Signifikante Steigerung der Rate schwerer Blutungen (3% für Rivaroxaban + ASS vs. 2% für ASS mono; HR 1.61; 95% CI 1.12-2.31)
- Keine signifikante Reduktion der Gesamtsterblichkeit (5% für Rivaroxaban + ASS vs. 6% für ASS mono; HR 0.91; 95% CI 0.72-1.16)
- Kein signifikanter Nutzen der Rivaroxaban-Monotherapie gegenüber ASS aber Steigerung der Blutungen

In einer kürzlich publizierten Subanalyse wurde der Effekt der Kombinationstherapie aus Rivaroxaban 2x2,5 + ASS vs. ASS-Monotherapie auf das Apoplexrisiko detaillierter betrachtet (5).

- Signifikante Reduktion der Rate aller Schlaganfälle signifikant (0.9%/Jahr für Rivaroxaban + ASS vs. 1.6%/Jahr für ASS mono; HR 0.58, 95% CI 0.44-0.76)
- Signifikante Reduktion der Rate an tödlichen Schlaganfällen oder solchen mit bleibender Behinderung (0.3%/Jahr für Rivaroxaban + ASS vs. 0.6%/Jahr für ASS mono; HR 0.58, 95% CI 0.37-0.89)
- Sehr konsistente Effekte in Subgruppen mit verschiedenen Risikoprofilen, inkl. Patienten mit Apoplexanamnese.

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Ergebnisse der COMPASS-Studie verdeutlichen, dass Patienten mit stabiler KHK, vor allem aber Patienten mit stabiler PAVK trotz optimaler medikamentöser Therapie (90% Statintherapie, 70% Angiotensin-Hemmung; 70% Betablocker, 36% PPI) unter einer alleinigen ASS-Therapie eine hohe kardiovaskuläre Morbidität (5-7%) und Mortalität (4-6%) aufweisen, welche durch eine Hinzunahme einer niedrig dosierten Antikoagulation mit Rivaroxaban selbst in einem relativ kurzen Behandlungszeitraum von nur 23 Monaten signifikant gesenkt werden kann. Dabei profitierten PAVK-Patienten in besonderem Maße, da eine Halbierung der MALE, eine relative Risikoreduktion um 60% aller gefäßbedingten Amputationen und eine relative Risikoreduktion um 70% hinsichtlich der Majoramputationen erreicht werden konnte. Damit stellt dieser neue Ansatz der „dual pathway inhibition“ einen Meilenstein in der Differentialtherapie von Patienten mit stabiler KHK oder PAVK dar, da die Hinzunahme einer niedrig dosierten Antikoagulation mit Rivaroxaban zu ASS eine erhebliche Verbesserung klinisch,

prognostisch und gesundheitsökonomisch relevanter Endpunkte dieser Hochrisikopopulationen erreichen kann

Highlight 3: Antikoagulation oder Thrombozytenhemmung bei Patienten mit embolischem Hirninfarkt unklarer Ursache (*embolic stroke of unknown source, ESUS*). Die NAVIGATE-ESUS-Studie

Hart RG, Sharma M, Mundl H, Kasner SE, Bangdiwala SI, Berkowitz SD, Swaminathan B, Lavados P, Wang Y, Wang Y, Davalos A, Shamalov N, Mikulik R, Cunha L, Lindgren A, Arauz A, Lang W, Czlonkowska A, Eckstein J, Gagliardi RJ, Amarenco P, Ameriso SF, Tatlisumak T, Veltkamp R, Hankey GJ, Toni D, Berezki D, Uchiyama S, Ntaios G, Yoon BW, Brouns R, Endres M, Muir KW, Bornstein N, Ozturk S, O'Donnell MJ, De Vries Basson MM, Pare G, Pater C, Kirsch B, Sheridan P, Peters G, Weitz JI, Peacock WF, Shoamanesh A, Benavente OR, Joyner C, Themeles E, Connolly SJ. Rivaroxaban for Stroke Prevention after Embolic Stroke of Undetermined Source. *N Engl J Med.* 2018; 378 (23): 2191-2201.

(6)

Hintergrund

Seit Jahrzehnten stellen Thrombozytenhemmer die wichtigste Therapie in der Verhinderung rezidivierender nicht kardioembolischer Schlaganfälle dar. Etwa 20-25% aller ischämischer Schlaganfälle sind jedoch nicht so eindeutig zu klassifizieren. Sie zeigen ein typisch embolisches Manifestationsmuster (disseminierte, bilaterale Infarkte außerhalb der Grenzzonen), aber eine intensive Ursachensuche kann keine Emboliequelle aufdecken. Seit kurzem werden diese Schlaganfälle als „Embolic Stroke of Undetermined Source“ (ESUS) bezeichnet. Unter der Annahme, dass diese Schlaganfälle eine kardiale Emboliequelle haben (wie z.B. nicht detektiertes Vorhofflimmern), erhalten im klinischen Alltag solche Patienten ex juvantibus statt ASS 100 zuweilen eine therapeutische Antikoagulation. Eine große, internationale, randomisierte und placebokontrollierte Multizenterstudie (NAVIGATE ESUS) hat jetzt untersucht, ob Patienten mit einem ESUS in der Sekundärprophylaxe statt ASS von einer therapeutischen Antikoagulation mit Rivaroxaban profitieren.

Methodik

- Internationale doppelblinde, randomisierte Multizenterstudie (31 Länder, 459 Zentren)
- Einschluss von Patienten mit nicht-lakunärem Infarkt ohne Ursache in der Ursachensuche (Ausschluss höhergradiger Karotisstenosen, schwerer Arteriosklerose, VHF)
- 1:1- Randomisierung für Rivaroxaban 1 x 15 mg vs. Aspirin-Monotherapie (100 mg/d)
- Primärer Endpunkt war die Zeit bis zum Auftreten eines ersten Rezidivschlaganfalls (ischämisch, hämorrhagisch oder unspezifiziert) oder einer systemischen Embolie

Ergebnisse

- Einschluss von 7213 ESUS-Patienten
- Vorzeitiger Studienabbruch nach 11 Monaten (geplant waren im Mittel 24 Monate) wegen einer erhöhten Rate schwerer Blutungen unter Rivaroxaban 15 mg ohne vergleichbaren Zusatznutzen gegenüber ASS 100
- Der primäre Endpunkt trat in 5.1%/Jahr unter Rivaroxaban und 4.8%/Jahr unter ASS auf (HR 1.07; 95%CI 0.87-1.33)
- Die Rate an ischämischen Schlaganfällen war ebenfalls vergleichbar (4.7 vs. 4.7%)
- Schwere Blutungen traten signifikant häufiger unter Rivaroxaban auf (1.8%/Jahr vs. 0.7%/Jahr; HR 2.72; 95% CI 1.68-4.39)
- Hämorrhagische Schlaganfälle traten signifikant häufiger unter Rivaroxaban auf (0.4%/Jahr vs. 0.1%/Jahr; HR 6.5; 95% CI 1.47-28.8)
- Die Sterblichkeit war tendenziell erhöht unter Rivaroxaban (1.9%/Jahr vs. 1.5%/Jahr; HR 1.26; 95% CI 0.87-1.81)

Bedeutung für die klinische Praxis

Das negative Ergebnis dieser Studie ist einigermaßen überraschend, da eine sehr sorgfältige Patientenselektion auf Basis einer sehr detaillierten ESUS-Definition betrieben wurde und man davon ausgehen konnte, dass ein relevanter Anteil dieser Patienten in der Tat kardioembolische Infarkte erlitt, bei denen eine Antikoagulation bekanntermaßen einer Thrombozytenhemmung überlegen ist. Es stellt sich natürlich die Frage, ob die Dosisreduktion von Rivaroxaban (15mg/d anstelle der bei Vorhofflimmern und VTE-Therapie üblichen Standarddosierung von 20 mg) zum Verlust einer ausreichenden Wirksamkeit der Antikoagulation geführt haben kann. Auf der anderen Seite waren schwere Blutungen und hämorrhagische Schlaganfälle bereits unter Rivaroxaban 15mg signifikant häufiger als unter ASS 100, so dass eine höhere Rivaroxabandosis wahrscheinlich ebenfalls keinen klinischen Nettonutzen für ESUS-Patienten erreichen würde, da einer möglichen Zunahme der Wirksamkeit auch eine Zunahme der Blutungskomplikationen gegenüberstehen dürfte. Auf Basis dieser Ergebnisse bleibt zu folgern, dass derzeit ASS 100 die beste Therapieoption für Patienten mit ESUS bleiben wird, zumal eine weitere Studie mit Dabigatran in Standarddosierung vs. ASS 100 ebenfalls keinen Nutzen einer Antikoagulation zeigen konnte. Die Ergebnisse der RESPECT-ESUS-Studie wurden beim Weltschlaganfallkongress in Montreal Mitte Oktober 2018 präsentiert. Bei 5.930 ESUS Patienten waren die Raten an Schlaganfallrezidiven (4,1 %/Jahr unter Dabigatran vs. 4,8 %/Jahr unter ASS) sowie die Häufigkeit schwerer Blutungen (1.7%/Jahr vs. 1.4%/Jahr) nicht signifikant unterschiedlich.

Highlight 4: moderne Antikoagulation bei Patienten mit Antiphospholipid-Antikörpersyndrom – VKA oder das DOAK Rivaroxaban?

Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, Andreoli L, Tincani A, Cenci C, Prisco D, Fierro T, Gresele P, Cafolla A, De Micheli V, Ghirarduzzi A, Tosetto A, Falanga A, Martinelli I, Testa S, Barcellona D, Gerosa M, Banzato A. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2018; 132 (13): 1365-1371.

(7)

Hintergrund

Patienten mit Antiphospholipidsyndrom (APS) zeigen ein erhöhtes Risiko für venöse und arterielle Thromboembolien sowie Schwangerschaftskomplikationen. Im Umkehrschluss folgt daraus, dass nicht wenige Thromboemboliepatienten zum Zeitpunkt des Ereignisses ein bekanntes APS haben oder in der Folge ein APS als zu Grunde liegende Ursache diagnostiziert bekommen. Für die Diagnosestellung eines APS gelten strenge Kriterien, welche neben den genannten klinischen Manifestationen den wiederholten Nachweis von APS-Antikörpern (vor allem Cardiolipin IgG oder IgM und/oder β 2-Glycoprotein IgG oder IgM) und/oder den Nachweis eines Lupus-Antikoagulans in Screening- und Bestätigungstest verlangen. Dabei müssen diese Antikörper in vergleichbarer Konstellation über mindestens 12 Wochen in mehreren Laboruntersuchungen nachweisbar sein. APS-Patienten mit venösen Thromboembolien (VTE) benötigen eine dauerhafte Antikoagulation und der bisherige Standard bestand in einer Therapie mit Vitamin K Antagonisten (VKA). Aufgrund der Komplexität der VKA Therapie und einem erhöhten Blutungsrisiko lösen direkte orale Antikoagulantien (DOAK) die VKA in der VTE-Therapie derzeit ab. Daraus ergibt sich die Frage, ob DOAK auch zur Therapie der Hochrisikopatienten mit APS eingesetzt werden können. Im Jahr 2016 wurden die Ergebnisse der RAPS-Studie veröffentlicht, in der in einem randomisierten Vergleich des DOAK Rivaroxaban gegen Warfarin (INR 2-3) der Einfluss auf das endogene Thrombinpotential als Surrogatparameter für die antikoagulatorische Wirkung untersucht wurde. Fazit dieser Studie an 116 APS- Patienten war, dass Rivaroxaban im Vergleich zu Warfarin zwar eine etwas andere pharmakologische Kinetik hinsichtlich der Hemmung der Thrombingenerierung hatte, in Summe aber eine vergleichbar intensive Gerinnungshemmung bei APS erreichen konnte, was zusätzlich durch weitere Laborparameter (Thrombin–Antithrombin-Komplexe, F 1 + 2, D-Dimer) und durch das Fehlen thromboembolischer Komplikationen in beiden Therapiearmen im 6-Monats-Followup unterstützt wurde. Einschränkend ist zu sagen, dass in dieser Studie alle Patienten nach der letzten VTE eine mindestens 3-monatige VKA-Therapie erhielten und dass somit keine akute VTE-Behandlung stattfand. Dazu wurden Patienten mit einer intensiveren VKA-Therapie (INR>3) und Patienten mit arteriellen Thromboembolien in der Anamnese ausgeschlossen und der Anteil der Triple-positiven APS-Patienten (nochmals gesteigertes Thromboembolierisiko durch Cardiolipin+ β 2-GP-Antikörper + Lupus-Antikoagulans) lag bei nur 26%.

Vor diesem Hintergrund wurde zwischen 2014 und 2018 die TRAPS-Studie (7) durchgeführt, um einen randomisierten Vergleich zwischen Rivaroxaban und Warfarin bei der VTE-Therapie von Hochrisikopatienten mit Triple-Positivität der APS-Antikörper zu untersuchen.

Methodik

- Randomisierte prospektive Studie zum Vergleich von Rivaroxaban (1 x 20 mg bei GFR > 50 ml/min bzw. 1 x 15 mg bei GFR 30-49 ml/min) vs. Warfarin (INR 2,0-3,0)
- Einschluss von triple-positiven APS-Patienten mit einer Anamnese für arterielle oder venöse Thromboembolien
- Ausschluss bei schwerer Niereninsuffizienz (GFR<30 ml/min) sowie klassischen Kontraindikationen für Rivaroxaban oder Warfarin
- Nach Fallzahlschätzung Einschluss von 536 Patienten geplant (268 pro Behandlungsarm)

Ergebnisse

- Vorzeitiger Abbruch der Studie durch das Safety Board nach Einschluss von 120 Patienten (59 Rivaroxaban; 61 Warfarin) wegen einer Ungleichverteilung thromboembolischer Komplikationen zwischen den Studienarmen
- Über ein mittleres Follow-up von 569 Tagen traten in der „as treated“ Analyse 11 Thromboembolien (19%) unter Rivaroxaban und nur 2 (3%) unter Warfarin auf. Diese Diskrepanz wurde getrieben durch vermehrt arterielle Thromboembolien unter Rivaroxaban (4 ischämische Schlaganfälle und 3 Myokardinfarkte unter Rivaroxaban vs. keine solchen Ereignisse unter Warfarin).
- Schwere Blutungen traten in 6 (7%) der Rivaroxaban und 2 (3%) der Warfarinpatienten auf

Charakteristika	Rivaroxaban (n=59)	Warfarin (n=61)	
Mittleres Alter (Jahre)	46.5 ± 10.2	46.1 ± 13.2	
CrCl, (mL/min)	117.0 ± 38.6	109.3 ± 36.7	
APS-Manifestation in der Anamnese	Z.n. Apoplex	8	8
	Z.n. Myokardinfarkt	0	2
	Z.n. anderen arteriellen TE	3	4
	Z.n. TVT u./o. LAE	36	32
	Z.n. anderen VTE	2	7
	Z.n. ATE + VTE	10 (17%)	8 (13%)
	Z.n. Schwangerschaftskomplikationen	16 (41% of female)	12 (32% of female)
ASS als Begleitmedikation	11 (19%)	10 (16%)	

Tab. 1: Basischarakteristika. Ref. (7)

	„As treated“ Analyse			ITT-Analyse		
	Rivaroxaban (n=59)	Warfarin (n=61)	HR (95% CI) p-Wert	Rivaroxaban (n=59)	Warfarin (n=61)	HR (95% CI) p-Wert
Alle Thromboembolien	11 (19%)	2 (3%)	6.7 (1.5-30.5) P=0.01	13 (22%)	2 (3%)	7.4 (1.7-32.9) P=0.008
Isch. Apoplex	4 (7%)	0	-	4 (7%)	0	-
Myokardinfarkt	3 (5%)	0	-	4 (7%)	0	-
VTE	0	0	-	1 (2%)	0	-
Schwere Blutungen	4 (7%)	2 (3%)	2.5 (0.5-13.6) p=0.3	4 (7%)	2 (3%)	2.3 (0.4-12.5) p=0.3
Tod	0	0	-	1(2%)	0	-

Tab. 2: Endpunkte. Ref. (7)

Bedeutung für die klinische Praxis

Trotz dieser inzwischen vorliegenden Erkenntnisse zu den Limitierungen einer DOAK-Therapie bei APS scheint zumindest Rivaroxaban in vielen Zentren recht großzügig auch bei APS eingesetzt zu werden. In einer ebenfalls in 2018 publizierten monozentrischen APS-Kohorte berichteten Martinelli et al. (8) über die Behandlung von 15 VKA und 13 Rivaroxaban-Patienten, von denen 46% triple-positiv waren. In einem mittleren Follow-up von 22 Monaten traten 5 Thromboembolien auf, davon eine unter Warfarin (2.4%) und 4 unter Rivaroxaban (19.4%; Hazard Ratio 7.53; 95%CI: 0.84-67.6). Diese Daten aus einer kleinen Fallserie unterstützen die Ergebnisse und Schlussfolgerungen der TRAPS-Studie ganz erheblich. Es ist zu schlussfolgern, dass gerade Patienten mit einem APS einer Differentialtherapie mit sorgfältigen Abwägungen hinsichtlich der thromboembolischen und Blutungsrisiken bedürfen. Während ein Patient mit „Standard-APS“ durchaus für eine DOAK-Therapie in Frage kommen kann, scheinen insbesondere Triple-positive APS-Patienten und solche mit einer Anamnese für arterielle Thromboembolien (immerhin 20% der TRAPS-Population) mit einem DOAK nicht ausreichend geschützt zu sein, so dass für diese Patienten VKA auch zukünftig die bevorzugte Therapieoption bleiben sollte.

Für eine tiefere Betrachtung des APS und der damit verbundenen Probleme und Fallstricke in Diagnostik und Therapie empfiehlt sich der exzellente Review von Cohen *et al.* als weiterführende Literatur (9).

Literatur

1. Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, Albaladejo P, Antz M, Desteghe L, Haeusler KG, Oldgren J, Reinecke H, Roldan-Schilling V, Rowell N, Sinnaeve P, Collins R, Camm AJ, Heidbuchel H. The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2018; 39 (16): 1330-1393.
2. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar AK, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Stork S, Keltai M, Ryden L, Pogosova N, Dans AL, Lanas F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim JH, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusuf K, Steg PG, Metsarinne KP, Cook Bruns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S, Investigators C. Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 377 (14): 1319-1330.
3. Connolly SJ, Eikelboom JW, Bosch J, Dagenais G, Dyal L, Lanas F, Metsarinne K, O'Donnell M, Dans AL, Ha JW, Parkhomenko AN, Avezum AA, Lonn E, Lisheng L, Torp-Pedersen C, Widimsky P, Maggioni AP, Felix C, Keltai K, Hori M, Yusuf K, Guzik TJ, Bhatt DL, Branch KRH, Cook Bruns N, Berkowitz SD, Anand SS, Varigos JD, Fox KAA, Yusuf S. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable coronary artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018; 391 (10117): 205-218.
4. Anand SS, Bosch J, Eikelboom JW, Connolly SJ, Diaz R, Widimsky P, Aboyans V, Alings M, Kakkar AK, Keltai K, Maggioni AP, Lewis BS, Stork S, Zhu J, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Commerford PJ, Vinereanu D, Pogosova N, Ryden L, Fox KAA, Bhatt DL, Misselwitz F, Varigos JD, Vanassche T, Avezum AA, Chen E, Branch K, Leong DP, Bangdiwala SI, Hart RG, Yusuf S. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable peripheral or carotid artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018; 391 (10117): 219-229.
5. Sharma M, Hart RG, Connolly SJ, Bosch J, Shestakovska O, Ng KKH, Catanese L, Keltai K, Aboyans V, Alings M, Ha JW, Varigos J, Tonkin A, O'Donnell M, Bhatt DL, Fox K, Maggioni A, Berkowitz SD, Cook Bruns N, Yusuf S, Eikelboom JW. Stroke Outcomes in the Cardiovascular Outcomes for People using Anticoagulation StrategieS (COMPASS) Trial. *Circulation*. 2019.
6. Hart RG, Sharma M, Mundl H, Kasner SE, Bangdiwala SI, Berkowitz SD, Swaminathan B, Lavados P, Wang Y, Wang Y, Davalos A, Shamalov N, Mikulik R, Cunha L, Lindgren A, Arauz A, Lang W, Czlonkowska A, Eckstein J, Gagliardi RJ, Amarenco P, Ameriso SF, Tatlisumak T, Veltkamp R, Hankey GJ, Toni D, Berczki D, Uchiyama S, Ntaios G, Yoon BW, Brouns R, Endres M, Muir KW, Bornstein N, Ozturk S, O'Donnell MJ, De Vries Basson MM, Pare G, Pater C, Kirsch B, Sheridan P, Peters G, Weitz JI, Peacock WF, Shoamanesh A, Benavente OR, Joyner C, Themeles E, Connolly SJ. Rivaroxaban for Stroke Prevention after Embolic Stroke of Undetermined Source. *N Engl J Med*. 2018; 378 (23): 2191-2201.
7. Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, Andreoli L, Tincani A, Cenci C, Prisco D, Fierro T, Gresele P, Cafolla A, De Micheli V, Ghirarduzzi A, Toso A, Falanga A, Martinelli I, Testa S, Barcellona D, Gerosa M, Banzato A. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2018; 132 (13): 1365-1371.
8. Martinelli I, Abbattista M, Bucciarelli P, Tripodi A, Artoni A, Gianniello F, Novembrino C, Peyvandi F. Recurrent thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies treated with vitamin K antagonists or rivaroxaban. *Haematologica*. 2018; 103 (7): e315-e317.
9. Cohen H, Efthymiou M, Isenberg DA. Use of direct oral anticoagulants in antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2018; 16 (6): 1028-1039.

Thrombose und Lungenembolie

Prof. Dr. Ingrid Pabinger

Klinische Abteilung für Hämatologie und Hämostaseologie

Universitätsklinik für Innere Medizin I, Medizinische Universität Wien

E-Mail: ingrid.pabinger@meduniwien.ac.at

State of the Art	3
Highlight 1: HOKUSAI-CAT Trial	6
Highlight 2: Apixaban-Prophylaxe bei Krebspatienten	9
Highlight 3: PADIS-DVT und PADIS-PE Studien	11
Literatur	13

State of the Art

Die tiefe Venenthrombose und die Pulmonalembolie, mit einem Überbegriff auch als venöse Thromboembolie (VTE) bezeichnet, sind häufig und stehen bei den kardiovaskulären Erkrankungen an dritter Stelle nach Myokardinfarkt und Schlaganfall. Das jährliche Auftreten einer venösen Thromboembolie liegt weltweit zwischen 0,75-2,69 per 1.000 Personen. Es besteht ein sehr klarer Zusammenhang mit dem Alter, bei Personen über 70 Jahren beträgt die Häufigkeit zwischen 2 und 7 pro 1.000 Personen (1).

Es bestehen heute klare diagnostische Kriterien und Empfehlungen und Leitlinien für die Behandlung einer akuten tiefen Beinvenenthrombose und Lungenembolie (2). Der wichtigste Eckpfeiler in der Therapie ist die Antikoagulation, für die verschiedene Substanzen (Tabelle 1) zur Verfügung stehen.

Klasse	Medikament	Verabreichungsmodus
Unfraktioniertes Heparin		i.v., s.c.
Niedermolekulares Heparin (LMWH)	Dalteparin, Enoxaparin, Tinzaparin, Nadroparin, Bemiparin	s.c.
Indirekter Faktor Xa Inhibitor	Fondaparinux	s.c.
Vitamin K Antagonisten (VKA)	Warfarin, Acenocoumarol, Phenprocoumon	Oral
Direkte Orale Anticoagulantien (DOAKS)		
Thrombin Inhibitor	Dabigatran	Oral
Faktor Xa Inhibitoren	Apixaban, Edoxaban, Rivaroxaban	Oral

Tab. 1: Antikoagulanzen zur Prophylaxe und Behandlung der VTE. Eigene Zusammenstellung der Autorin.

Die Antikoagulantientherapie bei VTE wird entweder mit einem niedermolekularen Heparin in therapeutischer Dosierung oder mit direkten oralen Antikoagulantien (DOAKS, auch non-vitamin K anticoagulants – NOACS genannt) durchgeführt. Wichtig ist, dass bei nachfolgender Therapie mit Vitamin K-Antagonisten, dem Thrombin-Inhibitor Dabigatran und dem Faktor X-Inhibitor Edoxaban immer ein niedermolekulares Heparin vor Beginn mit diesen Antikoagulantien verabreicht werden muss. Die Dauer beträgt vor Dabigatran und Edoxaban fünf Tage und bei Vitamin K-Antagonisten ist dies abhängig vom Erreichen des therapeutischen Bereiches mit einer INR von 2,0 bis 3,0. Rivaroxaban und Apixaban können bereits am Beginn der Therapie eingesetzt werden.

Die Weiterbehandlung nach der initialen Phase erfolgt entweder mit den direkten oralen Antikoagulantien oder mit Vitamin K-Antagonisten. Bei den Vitamin K-Antagonisten ist ein Bereich mit einer INR 2,0-3,0 anzustreben, die direkten oralen Antikoagulantien sind je nach Zulassung unter Einbeziehung individueller Besonderheiten von Patienten zu dosieren.

Allgemein kann davon ausgegangen werden, dass Vitamin K-Antagonisten und direkte orale Antikoagulantien gleich wirksam sind, manche direkte orale Antikoagulantien (Apixaban und Dabigatran) haben ein geringeres Blutungsrisiko als Warfarin (3).

Wahl des Antikoagulans

Die DOAKS können heute als Medikamente der Wahl in der Therapie und Sekundärprophylaxe der VTE gesehen werden, da sie wirksam und sicher sind und kein Monitoring der Gerinnungsparameter benötigen, daher für den Patienten sehr einfach anzuwenden sind. Auch Vitamin K Antagonisten können weiterhin als wirksame und sichere Therapie gesehen werden. Es gibt besondere Patientengruppen, wie Patienten mit Tumorerkrankungen oder Patienten mit Antiphospholipid-Syndrom, bei denen bestimmte Medikamente eine bessere Effektivität bzw. ein geringeres Blutungsrisiko haben. Diese Besonderheiten müssen bei der Wahl des Antikoagulans in Betracht gezogen werden und die Therapie muss auf die individuelle Situation des Patienten abgestimmt werden.

Dauer der Antikoagulantientherapie

Die zweitwichtigste Frage, die meist bereits am Beginn und knapp nach der Diagnose der VTE zumindest richtungsweisend für den Patienten beantwortet werden kann, ist die Dauer der Antkoagulantien-Therapie. Es gelten, verkürzt dargestellt, folgende Regeln (4):

Antikoagulation für drei Monate erfolgt bei distalen Thrombosen und bei proximalen Thrombosen oder Lungenembolie, die durch bestimmte Ereignisse ausgelöst wurden, wie Operationen, Immobilisation mit akuter Erkrankung oder Verletzungen der unteren Extremität. Auf die Frage, was nun eine Thrombose ist, die „provziert“ ist, wird in der Publikation von Kearon (4) genau eingegangen. Als „provoked“ durch einen vorübergehenden Risikofaktor werden ein chirurgischer Eingriff in Allgemeinanästhesie von mehr als 30 Minuten, eine Immobilisierung mit Bettlägerigkeit für zumindest drei Tage mit einer akuten Erkrankung und ein Kaiserschnitt betrachtet.

Als weitere, aber nicht so bedeutende transiente Risikofaktoren, werden ein allgemein-chirurgischer Eingriff mit einer Anästhesie von weniger als 30 Minuten, Aufnahme in ein Spital mit einer akuten Erkrankung, Östrogen-Therapie (Pille und Hormonersatztherapie), Schwangerschaft oder Geburt, Immobilisation von <3 Tagen mit akuter Erkrankung und Verletzung eines Beines betrachtet. In diesen Fällen wird die Durchführung der Antikoagulation ebenfalls für drei Monate empfohlen.

Eine Fortsetzung der Antikoagulation über 3 Monate hinaus wird empfohlen, wenn bei proximaler Thrombose oder Pulmonalembole kein auslösendes Ereignis besteht („unprovoked VTE“) bzw. ein persistierender Risikofaktor, wie eine Tumorerkrankung, vorhanden ist, wird eine Fortführung der Antikoagulation bei proximaler Thrombose bzw. Lungenembolie empfohlen.

Eine Art „Fine-Tuning“ für die Antikoagulation über den Zeitraum von 3 Monaten hinaus kann durch Risiko-Scores erfolgen, wobei die Autorin persönlich das Vienna Prediction

Model bevorzugt, das mehrfach validiert wurde und das die Lokalisation der Thrombose (distal, proximal oder Pulmonalembolie), das Geschlecht (männlich oder weiblich) und die Höhe des D-Dimer-Spiegels umfasst. Es kann mit einem Link in einem Online-Tool für jeden individuellen Patienten mit spontaner Thrombose das Rezidivrisiko für die Zeiträume 1 und 5 Jahre errechnet werden (5).

In den folgenden Highlights sollen vor allem zwei Aspekte betrachtet werden: einerseits die tumorassoziierte Thrombose und diesbezüglich sowohl Prophylaxe als auch Therapie, da hierzu im letzten Jahr ganz wesentliche neue Studien mit den DOAKS publiziert wurden.

Im dritten Highlight möchte ich mich mit dem speziellen Rezidivrisiko nach einer spontanen venösen Thromboembolie ohne Tumorerkrankung beschäftigen. Immer noch ist es schwer zu verstehen, dass Patienten mit einem einmaligen venösen Thromboembolie-Ereignis auch nach vielen Jahren eine hohe Wahrscheinlichkeit für das Wiederauftreten einer Thrombose haben. Und immer wieder muss mit betroffenen Patienten die Dauer der Antikoagulation diskutiert werden. Es ist auch schwer verständlich, dass nicht ein bestimmtes Zeitintervall, das über die drei Monate Antikoagulation hinausgeht, einen Einfluss auf das spätere Risiko einer neuerlichen VTE hat.

Mit diesem Thema beschäftigen sich die PADIS-DVT und PADIS-PE Studien, die zwar mit Vitamin K-Antagonisten durchgeführt wurden, aber genau dieses Problem der Dauer der Antikoagulation und des Rezidivrisikos nach dem Absetzen untersuchen.

Highlight 1: HOKUSAI-CAT Trial

Raskob GE, van Es N, Verhamme P, Carrier M, Di Nisio M, Garcia D, Grosso MA, Kakkar AK, Kovacs MJ, Mercuri MF, Meyer G, Segers A, Shi M, Wang TF, Yeo E, Zhang G, Zwicker JJ, Weitz JJ, Buller HR. Edoxaban for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism. *N Engl J Med.* 2018; 378 (7): 615-624.

(6)

Hintergrund

Die Hokusai-CAT Studie ist die erste Studie, die ein DOAK (Edoxaban) mit dem Goldstandard in der Behandlung der tumorassoziierten Thrombose, niedermolekularem Heparin (Dalteparin), vergleicht. Es wurden Patienten eingeschlossen, die eine objektivierte tiefe Venenthrombose oder Lungenembolie hatten, sowohl symptomatisch als auch asymptomatisch. Die Patienten hatten unterschiedlichste Tumorerkrankungen.

Methodik

Es handelte sich um eine offene, randomisierte Studie mit verblindeter Endpunkt-Evaluierung. Das heißt, dass die Personen, die Rezidiv- und Blutungs-Ereignisse beurteilten, nicht über die Therapieart informiert waren. Es wurde kein Screening für Rezidiv-Ereignisse durchgeführt, sondern es wurden nur symptomatische Rezidive erhoben. Wichtig ist auch zu erwähnen, dass der primäre Endpunkt eine Kombination aus venösem Thromboembolie-Rezidiv und schwerer Blutung war. Die Dauer der Studie betrug 12 Monate.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 1.050 Patienten randomisiert. Der primäre Endpunkt trat bei 12,8% in der Edoxaban-Gruppe und bei 13,5% in der Dalteparin-Gruppe auf, dies bedeutete nicht-Unterlegenheit von Edoxaban gegenüber Dalteparin. Wenn man Rezidive einer Thrombose oder Pulmonalembolie und schwere Blutungsereignisse getrennt betrachtet, ergibt sich die interessante Tatsache, dass die Rezidivrate unter Edoxaban mit 7,9% gegenüber Dalteparin mit 11,3% geringer war, während die schweren Blutungen mit 6,9% in der Edoxaban-Gruppe und 4% in der Dalteparin-Gruppe niedriger lagen. Abbildung 1 zeigt die jeweiligen Kaplan-Meier Kurven für den primären Endpunkt, die Rezidivthrombosen und die schweren Blutungen während des Studienverlaufs.

Bedeutung für die klinische Praxis

Nachdem bislang niedermolekulares Heparin als Behandlung der Wahl bei der tumorassoziierten Thrombose galt, zeigen die Daten der HOKUSAI-CAT Studie, dass das DOAK Edoxaban wirksamer ist, allerdings etwas mehr Blutungen verursacht. Wenn man die Daten näher betrachtet, wird klar, dass die Blutungen in erster Linie bei Patienten mit gastrointestinalen Tumoren aufgetreten waren. In der Gruppe der Patienten mit gastrointestinalen Tumoren ist eine individuelle Vorgangsweise notwendig, wobei hier unter Experten keine Einigkeit herrscht, ob solche Patienten ein DOAK bekommen können oder ob sie weiterhin niedermolekulares Heparin erhalten sollen. Es ist hier

noch hervorzuheben, dass es sich zwar, laut der ISTH-Blutungsdefinition, um schwere Blutungen handelte, aber die Blutungen nicht zum Tod führten und im normalen klinischen Setting gut zu managen waren. Es besteht Übereinstimmung darüber, dass durch diese Studiendaten die Lebensqualität von Tumorpatienten mit Thrombose durch die Behandlung der Thrombose mit einem oral einzunehmenden Medikament wesentlich verbessert wird.

Zwei weitere Studien sind mittlerweile als volle Arbeit oder als Abstract publiziert, die ebenfalls direkte orale Antikoagulantien mit Dalteparin bei tumorassoziierter Thrombose vergleichen. Es handelt sich hier um die SELECT-D Studie mit Rivaroxaban (7) und die ADAM Studie (8). Die beiden ergänzenden Studien, die weniger Patienten inkludierten, erbrachten hinsichtlich Rezidivrate ein ähnliches Ergebnis, nämlich eine bessere Wirksamkeit der DOAKs. Patienten, die Rivaroxaban erhielten, hatten ein deutlich erhöhtes Blutungsrisiko gegenüber der Dalteparin Gruppe, während dieses war bei der Therapie mit Apixaban nicht vorhanden war.

Eine weitere große Studie mit Apixaban ist im Gange. In den derzeitigen Leitlinien ist das Ergebnis dieser Studien noch nicht abgebildet, aber ich bin persönlich überzeugt, dass DOAKs bei der tumorassozierten Thrombose eingesetzt werden können und sollen.

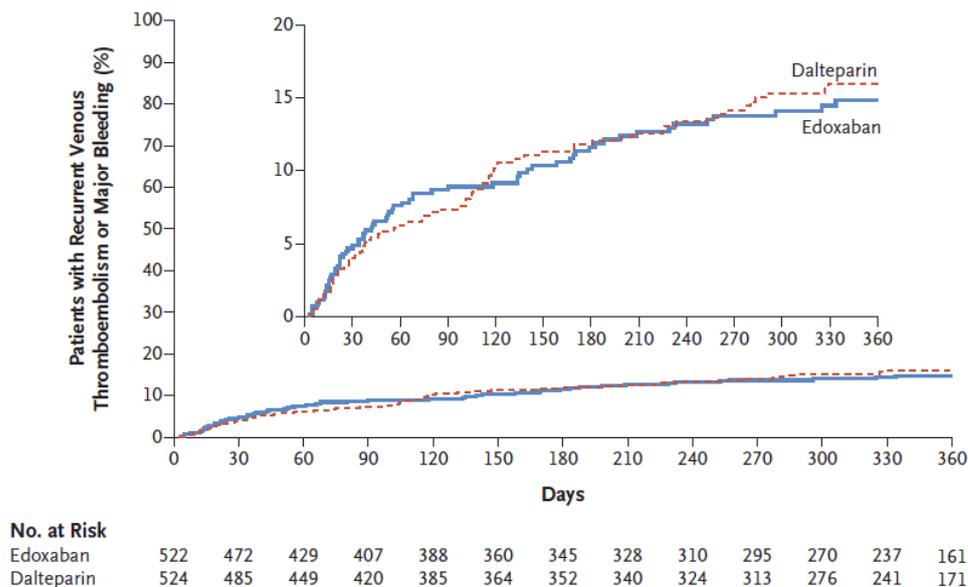


Abb. 1: Composite Outcome (Rezidiv-VTE oder Blutung) bei Patienten unter Edoxaban bzw Dalteparin (6).

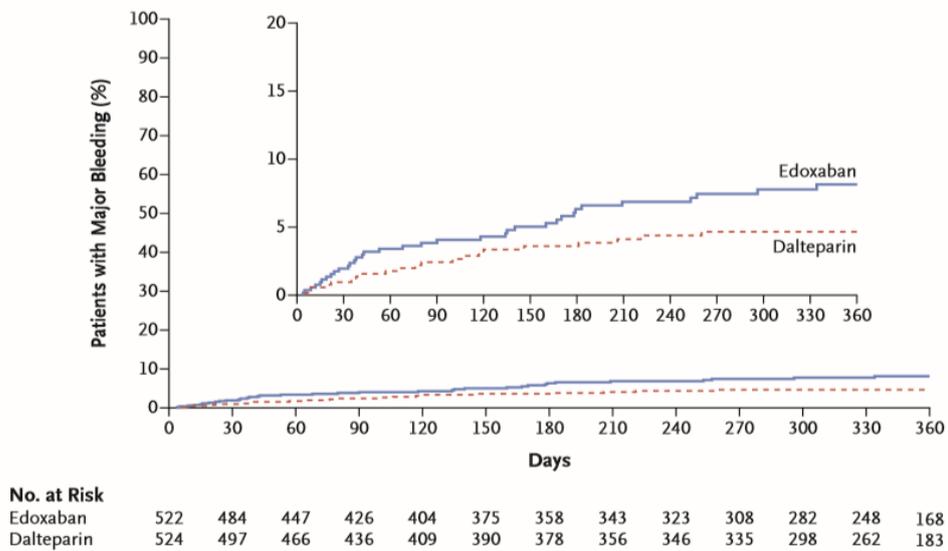
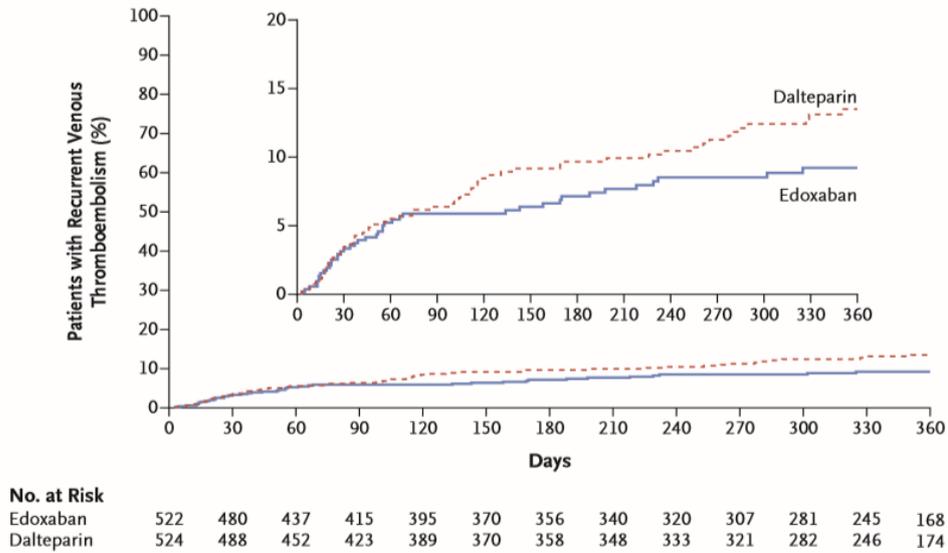


Abb. 2: VTE-Rezidivrate und Rate schwerer Blutungen bei Patienten unter Edoxaban bzw Dalteparin (6).

Highlight 2: Apixaban-Prophylaxe bei Krebspatienten

Carrier M, Abou-Nassar K, Mallick R, Tagalakis V, Shivakumar S, Schattner A, Kuruville P, Hill D, Spadafora S, Marquis K, Trinkaus M, Tomiak A, Lee AYY, Gross PL, Lazo-Langner A, El-Maraghi R, Goss G, Le Gal G, Stewart D, Ramsay T, Rodger M, Witham D, Wells PS. Apixaban to Prevent Venous Thromboembolism in Patients with Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Dec 4. doi: 10.1056/NEJMoa1814468; in press.

(9)

Hintergrund

Seit langem ist aus Interventionsstudien bekannt, dass niedermolekulare Heparine bei Tumorpatienten in der Primärprophylaxe zur Verhütung von venösen Thromboembolien wirksam sind. Das Problem bei diesen Studien war jedoch, dass zwar Patienten mit fortgeschrittenen Karzinomen inkludiert wurden, aber das absolute Thromboserisiko nicht sehr hoch war, mit circa 4-6% bei der Kontrollgruppe (Placebo oder keine Intervention). Obwohl eine Absenkung des Risikos auf circa 50% durch niedermolekulare Heparine erreicht wurde, war der effektive Nutzen wegen des niedrigen Thromboserisikos bei den meisten Patienten nicht ausreichend überzeugend vorhanden.

Dies ist die erste vollständig publizierte Phase III-Studie, die ein DOAK (Apixaban) im Vergleich zu Placebo in Bezug auf eine Verhütung von venösen Thromboembolien bei Patienten mit Tumorerkrankung und mittlerem und hohem Thromboserisiko vergleicht.

Methodik

In dieser Studie hat man versucht, Patienten mit einem höheren Thromboserisiko einer Prophylaxe zuzuführen. Zur Risikostratifizierung wurde der Khorana Score (10) verwendet, Patienten mit einem Khorana Score von 2 oder höher wurden inkludiert und über sechs Monate entweder mit Apixaban oder einem Placebo behandelt.

Die Fallzahlberechnung für diese Studie basierte auf den Daten der Vienna Cancer and Thrombosis Studie (CATS), aus der ein errechnetes Risiko für eine symptomatische Thrombose nach sechs Monaten von 9,6% angenommen wurde (11).

Ergebnisse

Insgesamt wurden 574 Patienten in 2 Arme (Apixaban versus Placebo) randomisiert. Eine venöse Thromboembolie trat bei 4,2% im Apixaban-Arm und bei 10,2% im Placebo-Arm auf (Abbildung 2). Damit ist die Risikoabsenkung sehr deutlich, mit einer Hazard Ratio von 0,41 (95% CI: 0,26-0,65). Die schweren Blutungen waren mit 3,5% in der Apixaban-Gruppe etwas erhöht gegenüber der Placebo-Gruppe mit 1,8%.

Bedeutung für die klinische Praxis

In dieser Studie wurde nun erstmalig gezeigt, dass direkte orale Antikoagulantien wirksam zur Verhinderung von Thrombosen bei Tumorpatienten sind und eine über 50%ige Herabsetzung des Thromboserisikos erreicht werden kann. Inwieweit eine Herabsetzung von 10% auf circa 4% in den ersten sechs Monaten nach der Diagnose und

unter Chemotherapie für Onkologische Patienten von Bedeutung ist, wird die Zukunft zeigen. Ich meine, dass, je höher das Thromboserisiko ist, desto eher werden sowohl Onkologen als auch Patienten bereit sein, ein zusätzliches Medikament zur Thromboseverhinderung einzusetzen. Das leicht erhöhte Blutungsrisiko ist zu bedenken. Eine verminderte Mortalität wurde bei Patienten unter Apixaban nicht beobachtet.

Wichtig ist hier auch anzumerken, dass ein deutlicher Unterschied zwischen der Intention-to-treat Analyse und der Analyse, die sich auf die Zeit während der aktiven Behandlungsperiode bezieht, besteht. Die Daten sind noch wesentlich besser, wenn man nur die Zeit unter Therapie heranzieht, da in dieser Periode eine Risikoabsenkung auf 15% (1% unter Apixaban und 7,3% Thromboserate unter Placebo) eine eindrucksvolle Wirksamkeit ist. Nachdem wir als Hämostaseologen aufgerufen sind, Thrombosen möglichst zu verhindern, sollten wir auf diesem Gebiet Überzeugungsarbeit leisten. Wenn man zum Beispiel die Sekundärprophylaxe bei spontanen Thrombosen betrachtet, so erscheint es sehr klar und wird auch meist eingehalten, dass Patienten mit einem Rezidivrisiko von 10% über 12 Monate (also mit der Hälfte des Risikos im Vergleich zu den Tumorpatienten) bei proximaler Thrombose oder Pulmonalembolie eine langfristige Sekundärprophylaxe teilweise über Jahrzehnte erhalten. Die Verhinderung einer VTE sollte auch bei Tumorpatienten ein wichtiges Ziel sein.

Hier soll noch erwähnt werden, dass mit den Ergebnissen der CASSINI Studie (Rivaroxaban zur Primärprophylaxe), die noch nicht komplett publiziert wurden, aber bei ASH 2018 von A. Khorana vorgestellt wurde (12), sehr ähnliche Ergebnisse hinsichtlich Risikoabsenkung bei einer mittleren und Hochrisiko-Gruppe (Khorana Score ≥ 2) erzielt wurden, ohne Erhöhung des Blutungsrisikos.

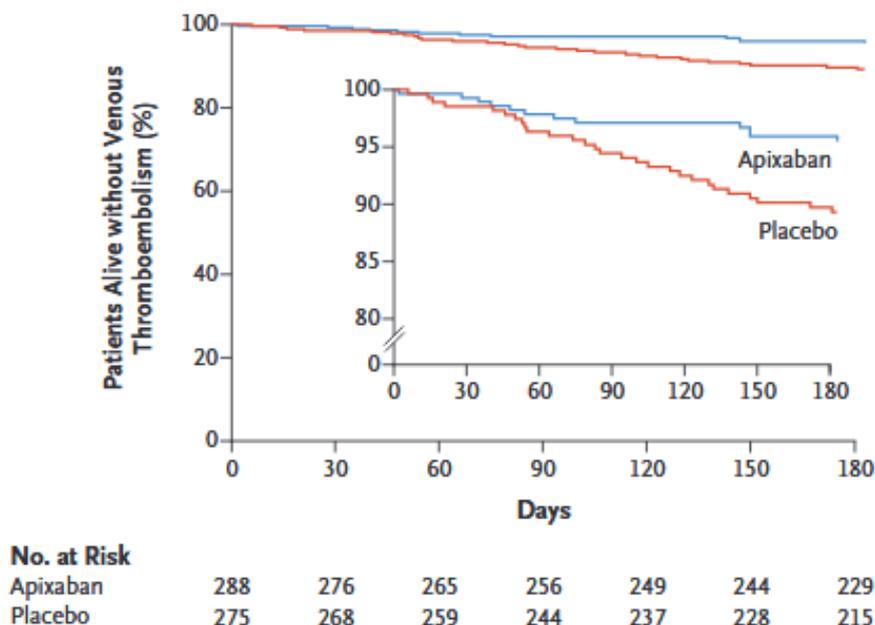


Abb. 3: Wahrscheinlichkeit frei von VTE zu sein während Prophylaxe mit Apixaban bzw Placebo bei Tumorpatienten (12).

Highlight 3: PADIS-DVT und PADIS-PE Studien

Couturaud F, Pernod G, Presles E, Duhamel E, Jego P, Provost K, Pan-Petes B, Bal Dit Sollier C, Tromeur C, Hoffman C, Bressollette L, Lorillon P, Girard P, Le Moigne E, Le Hir A, Guegan M, Laporte S, Mismetti P, Lacut K, Bosson JL, Bertolotti L, Sanchez O, Meyer G, Leroyer C, Mottier D. Six months versus two years of oral anticoagulation after a first episode of unprovoked deep-vein thrombosis. The PADIS-DVT randomized clinical trial. *Haematologica*. 2019 Jan 3. pii: haematol.2018.210971; in press.

(13)

Couturaud F, Sanchez O, Pernod G, Mismetti P, Jego P, Duhamel E, Provost K, dit Sollier CB, Presles E, Castellant P, Parent F, Salaun PY, Bressollette L, Nonent M, Lorillon P, Girard P, Lacut K, Guegan M, Bosson JL, Laporte S, Leroyer C, Decousus H, Meyer G, Mottier D. Six Months vs Extended Oral Anticoagulation After a First Episode of Pulmonary Embolism: The PADIS-PE Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2015; 314 (1): 31-40.

(14)

Hintergrund

Wie in der Einleitung bereits diskutiert, besteht immer wieder die Frage, wie lange Patienten antikoaguliert werden sollen und besonders jüngere Patienten sind unglücklich, wenn von einer langfristigen oder gar lebenslangen Antikoagulation gesprochen wird. Dabei wissen wir aus Vorstudien, dass mit Absetzen der Antikoagulantien-Therapie das Rezidivrisiko nach einer nicht provozierten Thrombose sehr bedeutend ist. Eine französische Studiengruppe hat sich nun noch einmal sehr genau dieser Frage gestellt.

Methodik

Zwei Studien (investigator-initiated) wurden bei Patienten, die nach tiefer Venenthrombose (PADIS-DVT) oder Pulmonalembolie (PADIS-PE) sechs Monate Vitamin K-Antagonisten hatten, und dann in zwei Gruppen randomisiert wurden, durchgeführt. Es erfolgte randomisiert eine Weiterführung der Antikoagulation über 18 Monate oder Beendigung, weiters – und das ist das Besondere – eine nachfolgende Beobachtung über 2 Jahre.

In der PADIS-DVT Studie wurden insgesamt 104 Patienten analysiert, die nach einer tiefen Beinvenenthrombose und sechs Monaten Antikoagulation einerseits weiterhin 18 Monate Behandlung oder Placebo erhielten.

Ergebnisse

Während dieser 18 Monate trat bei keinem der antikoagulierten Patienten ein Rezidiv-VTE-Ereignis auf, aber bei 29,6% unter Placebo. In der weiterführenden Zweijahres-Beobachtungsperiode, in der keine der beiden Gruppen eine Antikoagulation erhielt, kam es aber zu einem „Catch-Up“ der vorher mit Warfarin behandelten Gruppen, sodass letztendlich nach 42 Monaten Studienphase der Composite Outcome für Rezidiv-Venenthrombose und schwere Blutung bei den länger Antikoagulierten 36,8% und bei den nur sechs Monate Antikoagulierten bei 31,5% lag (Abbildung 3). Das heißt, dass der Vorteil einer längerfristigen Antikoagulation nach beim Absetzen innerhalb von zwei

Jahren nicht mehr gegeben ist. Möchte man Patienten vor Rezidiv-Venenthrombosen schützen, muss eine langfristige Antikoagulation erfolgen.

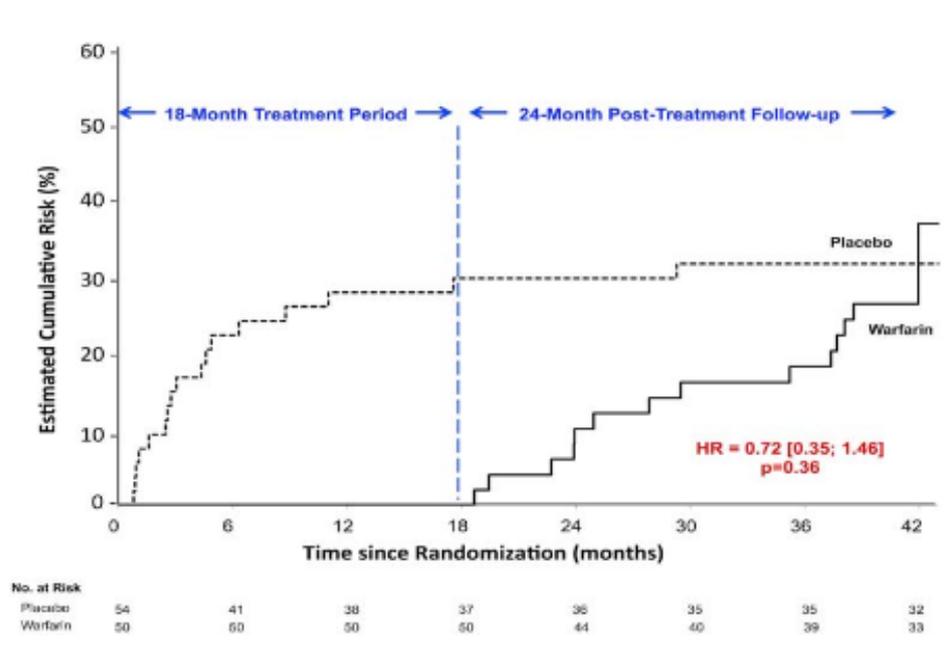


Abb. 4: Kumulatives Risiko des Auftretens einer VTE bzw einer schweren Blutung bei Patienten („Composite Outcome“), die nach 6 Monaten weitere 18 Monate Vitamin K Antagonisten erhielten im Vergleich zu Patienten, die nach 6 Monaten weitere 18 Monate Placebo erhielten (13).

Praktisch ident ist das Ergebnis der bereits 2015 in JAMA publizierten PADIS-PE Studie (14), bei der dasselbe Design bei Patienten mit Pulmonalembolie angewendet wurde. Mit dem primären Endpunkt eines Composite Outcomes von Rezidiv-Pulmonalembolie und Major Bleeding war dieser Outcome bei 20,8% in der Warfarin-Gruppe und bei 24% in der Placebo-Gruppe. Die Raten von Rezidiv-Embolien, schweren Blutungen und unklaren Todesfällen unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen.

Bedeutung für die klinische Praxis

Patienten mit einer spontanen tiefen Beinvenenthrombose profitieren nicht von einer längerfristigen Antikoagulation, wenn diese dann beendet wird. Sie profitieren nur, wenn die Antikoagulation weitergeführt wird. Dies unterstützt die derzeit gültigen Leitlinien, dass nach einem nicht provozierten Ereignis einer proximalen tiefen Beinvenenthrombose oder Pulmonalembolie eine langfristige Antikoagulation eingeleitet werden soll. Die Autorin überzeugt, dass die Ergebnisse auch mit den DOAKS nicht anders zu erwarten sind.

Obwohl die Gesamtzahl der Patienten in den beiden Studien nicht sehr hoch ist, punkten diese Studien mit dem klaren Design und der langen Dauer der Studien- und Beobachtungszeit. Die Studiendaten unterstreichen und bestätigen unsere Annahmen, dass es sich bei der Neigung zu venösen Thrombosen und Pulmonalembolien um einen chronischen Zustand handelt, der mit dem Auftreten des ersten nicht-provozierten Ereignisses bestehen bleibt. Für die Zukunft wird es wichtig sein, die Patienten noch besser in Gruppen mit hohem oder niedrigem Rezidivrisiko zu stratifizieren.

Literatur

1. ISTH Steering Committee for World Thrombosis Day. Thrombosis: a major contributor to the global disease burden. *J Thromb Haemost.* 2014; 12 (10): 1580-1590.
2. Kearon C, Ageno W, Cannegieter SC, Cosmi B, Geersing GJ, Kyrle PA. Categorization of patients as having provoked or unprovoked venous thromboembolism: guidance from the SSC of ISTH. *J Thromb Haemost.* 2016; 14 (7): 1480-1483.
3. Cohen AT, Hamilton M, Bird A, Mitchell SA, Li S, Horblyuk R, Batson S. Comparison of the Non-VKA Oral Anticoagulants Apixaban, Dabigatran, and Rivaroxaban in the Extended Treatment and Prevention of Venous Thromboembolism: Systematic Review and Network Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016; 11 (8): e0160064.
4. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, Blaivas A, Jimenez D, Bounameaux H, Huisman M, King CS, Morris TA, Sood N, Stevens SM, Vintch JRE, Wells P, Woller SC, Moores L. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. *Chest.* 2016; 149 (2): 315-352.
5. Eichinger S, Heinze G, Jandeck LM, Kyrle PA. Risk assessment of recurrence in patients with unprovoked deep vein thrombosis or pulmonary embolism: the Vienna prediction model. *Circulation.* 2010; 121 (14): 1630-1636.
6. Raskob GE, van Es N, Verhamme P, Carrier M, Di Nisio M, Garcia D, Grosso MA, Kakkar AK, Kovacs MJ, Mercuri MF, Meyer G, Segers A, Shi M, Wang TF, Yeo E, Zhang G, Zwicker JI, Weitz JI, Buller HR. Edoxaban for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism. *N Engl J Med.* 2018; 378 (7): 615-624.
7. Young AM, Marshall A, Thirlwall J, Chapman O, Lokare A, Hill C, Hale D, Dunn JA, Lyman GH, Hutchinson C, MacCallum P, Kakkar A, Hobbs FDR, Petrou S, Dale J, Poole CJ, Maraveyas A, Levine M. Comparison of an Oral Factor Xa Inhibitor With Low Molecular Weight Heparin in Patients With Cancer With Venous Thromboembolism: Results of a Randomized Trial (SELECT-D). *J Clin Oncol.* 2018; 36 (20): 2017-2023.
8. McBane RD, Wysokinski WE, Le-Rademacher J, Ashrani AA, Tafur AJ, Gundabolu K, Perez-Botero J, Perepu U, Anderson DM, Kuzma C, Ferre RI, Henkin S, Lenz C, Loprinzi C. Apixaban, Dalteparin, in Active Cancer Associated Venous Thromboembolism, the ADAM VTE Trial. *Blood.* 2018; 132 (Suppl. 1): Abstract 421.
9. Carrier M, Abou-Nassar K, Mallick R, Tagalakis V, Shivakumar S, Schattner A, Kuruvilla P, Hill D, Spadafora S, Marquis K, Trinkaus M, Tomiak A, Lee AYY, Gross PL, Lazo-Langner A, El-Maraghi R, Goss G, Le Gal G, Stewart D, Ramsay T, Rodger M, Witham D, Wells PS. Apixaban to Prevent Venous Thromboembolism in Patients with Cancer. *N Engl J Med.* 2018; in press.
10. Khorana AA, Kuderer NM, Culakova E, Lyman GH, Francis CW. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. *Blood.* 2008; 111 (10): 4902-4907.
11. Ay C, Dunkler D, Marosi C, Chiriack AL, Vormittag R, Simanek R, Quehenberger P, Zielinski C, Pabinger I. Prediction of venous thromboembolism in cancer patients. *Blood.* 2010; 116 (24): 5377-5382.
12. Khorana AA, Soff GA, Kakkar AK, Vadhan-Raj S, Riess H, Wun T, Streiff MB, Garcia DA, Liebman HA, Belani C, O'Reilly EM, Patel JN, Yimer HA, Wildgoose P, Burton P, Vijapurkar U, Kaul S, Eikelboom J, McBane RD, Bauer KA, Kuderer NM, Lyman GH. Rivaroxaban Thromboprophylaxis in High-Risk Ambulatory Cancer Patients Receiving Systemic Therapy: Results of a Randomized Clinical Trial (CASSINI). *Blood.* 2018; 132 (Suppl. 1): LBA-1.
13. Couturaud F, Pernod G, Presles E, Duhamel E, Jego P, Provost K, Pan-Petes B, Bal Dit Sollier C, Tromeur C, Hoffman C, Bressollette L, Lorillon P, Girard P, Le Moigne E, Le Hir A, Guegan M, Laporte S, Mismetti P, Lacut K, Bosson JL, Bertolotti L, Sanchez O, Meyer G, Leroyer C, Mottier D. Six months versus two years of oral anticoagulation after a first episode of unprovoked deep-vein thrombosis. The PADIS-DVT randomized clinical trial. *Haematologica.* 2019; in press.
14. Couturaud F, Sanchez O, Pernod G, Mismetti P, Jego P, Duhamel E, Provost K, dit Sollier CB, Presles E, Castellant P, Parent F, Salaun PY, Bressollette L, Nonent M, Lorillon P, Girard P, Lacut K, Guegan M, Bosson JL, Laporte S, Leroyer C, Decousus H, Meyer G, Mottier D. Six Months vs Extended Oral Anticoagulation After a First Episode of Pulmonary Embolism: The PADIS-PE Randomized Clinical Trial. *Jama.* 2015; 314 (1): 31-40.

Thrombophilie in der Schwangerschaft

Dr. Ute Scholz

Zentrum für Blutgerinnungsstörungen

MVZ Labor Dr. Reising-Ackermann und Kollegen

E-Mail: u.scholz@labor-leipzig.de

State of the Art	3
Highlight 1: Hereditäre Thrombophilie in der Schwangerschaft.....	6
Highlight 2: Vererbare Thrombophilie und Schwangerschaftskomplikationen.....	9
Highlight 3: Das Antiphospholipid-Syndrom in der Schwangerschaft	12
Literatur	14

State of the Art

Die Begriffsdefinition der „Thrombophilie“ umfasst ein weites Spektrum angeborener und erworbener Risikofaktoren für das Entstehen eines thrombembolischen Ereignisses. Häufig wird es nur unter dem Aspekt der laborchemischen Diagnostik einzelner Parameter gesehen, welches aber in der Einschätzung des individuellen Risikoprofils alle exogenen Faktoren (z.B. operative Eingriffe, Traumata, maligne Erkrankungen, Adipositas, Alter) nicht berücksichtigt. Im besonderen Maße gilt dieses für die Schwangerschaft und das Wochenbett. Durch eine Umstellung der Hämostase in eine prokoagulatorische Situation mit physiologischer Vorbereitung auf die Entbindung ergibt sich eine Veränderung der Hämostase in Richtung thrombophile Situation. Gemäß der Virchow'schen Trias sind dabei die Veränderungen der Blutströmung durch Kompression der Beckenachse, die Anpassungen der unterschiedlichen prokoagulatorischen Faktoren und die Verminderung des antikoagulatorischen Potentials zu beachten. In Tabelle 1 werden die verschiedenen thrombophilen Risikofaktoren in der Schwangerschaft nochmals zusammengefasst.

Pre-existing risk factors	Previous venous thromboembolism Thrombophilia (hereditary or acquired) Age > 35 years Obesity (body mass index >30 kg/m ²) Hypertensive disorders of pregnancy Parity ≥3 Smoking Gross varicose veins or symptomatic varicosis Paralysis or Paraplegia Medical comorbidities, e.g., heart or lung disease, inflammatory bowel disease, inflammatory polyarthropathy, systemic lupus erythematosus, nephrotic syndrome, type I diabetes mellitus with nephropathy, cancer, sickle cell disease
Obstetric risk factors	Multiple pregnancy, assisted reproductive therapy Prae-eclampsia Caesarean section Prolonged labour (> 24 hours) Mid-cavity or rotational operative delivery Severe postpartum haemorrhage (PPH)
Transient or potentially reversible risk factors	Assisted reproductive technology (ART), in vitro fertilization (IVF) Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) (first trimester) Any surgical procedure in pregnancy or puerperium (e.g. appendectomy, evacuation of retained products of conception (ERPC), postpartum sterilisation) Hyperemesis, dehydration Hospital stay or bed rest/immobility ≥ 3 days Systemic infection (e.g. pneumonia, pyelonephritis, postpartum wound infection) Long-distance travel (> 4-6 hours)

Tab. 1: Spezifische Risikofaktoren für thrombembolische Ereignisse in der Schwangerschaft (1)

Durch eine zusätzliche angeborene und/oder erworbene Störung der Zusammensetzung der Hämostase kann dann ein erhöhtes Risiko für thrombembolische Ereignisse einsetzen. Außerdem wird ein Einfluss pathologischer thrombophiler Parameter auf schwangerschaftsspezifische Aspekte diskutiert. Dabei sind Abortneigung, Präeklampsie, Wachstumsretardierung und Plazentalösung zu betrachten. Im nachfolgenden wird auf diese unterschiedlichen Parameter näher eingegangen.

Angeborene thrombophile Störungen

Im nachfolgenden sind in Tabelle 2 die gesicherten hereditären thrombophilen Störungen zusammengefasst.

Thrombophilia	Prevalence, %	Relative risk of VTE, OR (95%-CI)	Estimated absolute risk of VTE per 1000 pregnancies*
Factor V Leiden mutation			
Heterozygous	2.0-7.0	8.3 (5.4-12.7)	8/1000
Homozygous	0.2-0.5	34.4 (9.9-120.1)	34/1000
Prothrombin G20210A mutation			
Heterozygous	2.0	6.8 (2.5-18.8)	6/1000
Homozygous	rare	26.4 (1.2-559.3)	26/1000
Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutation			
Compound heterozygous		44 (25-79)	44/1000
Antithrombin deficiency	< 0.1-0.6	4.7 (1.3-17.0)	4/1000
Protein C deficiency	0.2-0.3	4.8 (2.2-10.6)	4/1000
Protein S deficiency	< 0.1	3.2 (1.5-6.9)	3/1000

Tab. 2: Häufigkeit der hereditären thrombophilen Störungen und Erstmanifestation eines thrombembolischen Ereignisses in der Schwangerschaft (2)

Die Bewertung des Risikos zum Auftreten eines entsprechenden Ereignisses und damit auch die Therapiekonsequenz aus der Diagnostik einer hereditären Thrombophilie hängt von der Art der Störung und den Begleitfaktoren ab. Aktuell wird die alleinige Diagnose einer heterozygoten Faktor V-Mutation oder Prothrombinmutation nicht als Indikation zu einer Prophylaxe mit einem Antikoagulant in der Schwangerschaft gewertet, hingegen stehen seltenen Störungen (Antithrombinmangel, Protein S-, Protein C-Mangels) und homozygote Anlageträger als schwere Formen und bedürfen einer medikamentösen Thromboseprophylaxe. Auch hier gilt, wie einleitend ausgeführt, das für die Beurteilung der Bedeutung für die einzelne Schwangerschaft der Einbezug des Alters, Familienanamnese (Betroffene klinische Ereignisse bei Angehörigen 1. Grades), Immobilität, Infektionen, etc. zu beachten ist (1-20).

Erworbene Thrombophilie

Im Vordergrund der gesicherten erworbenen Störungen steht aus Sicht der Hämostaseologie der Nachweis von Antiphospholipid-Antikörpern. Die standardisierten Kriterien zum Nachweis bestehen in der Erstdiagnostik mit Lupus Antikoagulans und Antiphospholipid-Antikörpern vom Cardiolipin- und β -2-Glykoprotein-Antikörper-Typ. Der Nachweis muss nach 8-12 Wochen bestätigt werden. Insbesondere bei triple positiven Befunden besteht eine hohe Assoziation zu Schwangerschaftskomplikationen. Bei dem zusätzlichen Nachweis von Aborten und thrombotischen Ereignissen spricht man vom Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom. Eine Therapie dieser erworbenen Störung ist bereits beim Nachweis der Antikörper gegeben. Die Therapie wird mit der Gabe von Acetylsalicylsäure (100mg/Tag), beginnend präkonzeptionell bis zur ca. 36.

Thrombophilie in der Schwangerschaft – Ute Scholz

Schwangerschaftswoche, und der gleichzeitigen Applikation einer Gabe von niedermolekularem Heparin durchgeführt (1,3, 17,18).

Highlight 1: Hereditäre Thrombophilie in der Schwangerschaft

Committee on Practice Bulletins: Inherited Thrombophilias in Pregnancy. Obstet Gynecol. 2018; 132(1): e18-e34.

(20)

Hintergrund

Vererbare thrombophile Parameter sind mit einem erhöhten Risiko von Thrombembolien in der Schwangerschaft und dem Outcome der Schwangerschaft assoziiert. Aufgrund der begrenzten Evidenz der Datenlage bestehen derzeit noch Unklarheiten zur Notwendigkeit der Diagnostik und dem Management der nachgewiesenen Störungen.

Methodik

Review der bekannten thrombophilen Störungen und deren Auswirkungen auf das maternale Thromboserisiko und den Verlauf der Schwangerschaft einschließlich der Therapieoptionen anhand der aktuellen Studienlage.

Ergebnisse

In der aktuellen Übersichtsarbeit werden zunächst die unterschiedlichen bekannten Inzidenzen der häufigen thrombophilen Störungen und deren Thromboserisiko dargestellt. Im Anschluß wird im Einzelnen auf die verschiedenen Testmöglichkeiten in der Schwangerschaft eingegangen. Die nachfolgende Abbildung zu empfohlenen Thromboseprophylaxe ist der Arbeit entnommen:

Clinical scenario	Antepartum management	Postpartum management
Low-risk thrombophilia without previous VTE	Surveillance without anticoagulation therapy	Surveillance without anticoagulation therapy or postpartum prophylactic anticoagulation therapy if the patient has additional risks factors
Low-risk thrombophilia with a family history (first-degree relative) of VTE	Surveillance without anticoagulation therapy or prophylactic LMWH/UFH	Postpartum prophylactic anticoagulation therapy or intermediate-dose LMWH/UFH
Low-risk thrombophilia with a single previous episode of VTE - not receiving long-term anticoagulation therapy	Prophylactic or intermediate-dose LMWH/UFH	Postpartum prophylactic anticoagulation therapy or intermediate-dose LMWH/UFH
High-risk thrombophilia without previous VTE	Prophylactic or intermediate-dose LMWH/UFH	Postpartum prophylactic anticoagulation therapy or intermediate-dose LMWH/UFH
High-risk thrombophilia with a single previous episode of VTE or an affected first-degree relative - not receiving long-term anticoagulation therapy	Prophylactic, intermediate-dose LMWH/UFH, or adjusted-dose LMWH/UFH	Postpartum prophylactic anticoagulation therapy with intermediate or adjusted-dose LMWH/UFH for 6 weeks (therapy level should be equal to the selected antepartum treatment)
Thrombophilia with two or more episodes of VTE - not receiving long-term anticoagulation	Intermediate-dose or adjusted-dose LMWH/UFH	Postpartum prophylactic anticoagulation therapy, or intermediate-dose LMWH/UFH or adjusted-dose LMWH/UFH for 6 weeks (therapy level should be equal to the selected antepartum treatment)
Thrombophilia with two or more episodes of VTE - receiving long-term anticoagulation	Adjusted-dose LMWH/UFH	Resumption of long-term anticoagulation therapy. Oral anticoagulants may be considered postpartum based upon planned duration of therapy, lactation, and patient preference.

Tab. 3: Empfohlene Thromboseprophylaxe bei hereditäre Thrombophilie

Außerdem werden verschiedene antikoagulatorische Regime zur angepassten Therapie tabellarisch sehr übersichtlich zusammengefasst.

Anticoagulation regimen	Anticoagulation dosage
Prophylactic LMWH	Enoxaparin, 40 mg SC once daily
	Dalteparin, 5,000 units SC once daily
	Tinzaparin, 5,000 units SC once daily
	Nadroparin, 2,850 units SC once daily
Intermediate-dose LMWH	Enoxaparin, 40 mg SC once daily
	Dalteparin, 5,000 units SC once daily
Adjusted-dose LMWH	Enoxaparin, 1 mg/kg every 12 hours
	Dalteparin, 200 units/kg SC once daily
	Tinzaparin, 175 units/kg once daily
	Dalteparin, 100 units/kg every 12 hours
	Target an anti-Xa level in the therapeutic range of 0.6-1.0 units/mL 4 hours after last injection for twice-daily regimen; slightly higher doses may be needed for a once-daily regimen
Prophylactic UFH	UFH, 5,000 - 7,500 units SC every 12 hours in first trimester
	UFH, 7,500 - 10,000 units SC every 12 hours in second trimester
	UFH, 10,000 units SC every 12 hours in third trimester, unless the aPTT is elevated
Adjusted-dose (therapeutic) UFH	UFH, 10,000 units or more SC every 12 hours adjusted to target aPTT in the therapeutic range (1.5 - 2.5 * control) 6 hours after injection
Postpartum anticoagulation	Prophylactic, intermediate, or adjusted dose LMWH for 6 - 8 weeks as indicated. Oral anticoagulants may be considered postpartum based upon planned duration of therapy, lactation, and patient preference
Surveillance	Clinical vigilance and appropriate objective investigation of women with symptoms suspicious of deep vein thrombosis or pulmonary embolism. VTE risk assessment should be performed pre-pregnancy or early in pregnancy and repeated if complications develop, particularly those necessitating hospitalization/prolonged immobility.

Tab. 4: Dosismöglichkeiten der Antikoagulation

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Übersichtarbeit gibt eine Zusammenfassung über Sinn und Notwendigkeit der Diagnostik einer hereditären Störung. In tabellarischer Form wird sehr übersichtlich die praktische Umsetzung vermittelt.

1. Eine Diagnostik ist indiziert bei Patientinnen mit abgelaufenem thrombembolischen Ereignis und /oder betroffenen Familienangehörigen 1. Grades.
2. Es sollten folgende hereditäre Störungen ausgeschlossen werden:
 - a. Faktor V-Mutation (R506Q)
 - b. Prothrombinmutation (G20210A)
 - c. Protein C-/S-Mangel
 - d. Antithrombinmangel

Alle weiteren Parameter (MTHFR, PAI, Protein Z etc. sind als nicht gesichert zu betrachten

3. Aus der Diagnostik wird in tabellarischer Form die Notwendigkeit und Art der Antikoagulation dargestellt.
4. Es erfolgt die eindeutige Aussage, dass andere Schwangerschaftskomplikationen (Abort, Wachstumsretardierung, Plazentalösung) nach aktuellem Wissenstand keine Indikation zur Diagnostik einer Thrombophilie darstellen.

Highlight 2: Vererbare Thrombophilie und Schwangerschaftskomplikationen

Arachchilage DRJ, Makris M. Inherited Thrombophilia and Pregnancy Complications: Should We Test? Semin Thromb Hemost. 2019; 4 5(1): 50-60.

(22)

Hintergrund

In der Abklärung von rezidivierenden Aborten und schwangerschaftsassozierten Komplikationen bestehen unterschiedliche Angaben zur Evidenz bei vererbaren thrombophilen Störungen. Insbesondere unter dem Aspekt der plazentaren Mikrothrombosen wird teilweise der Einsatz einer antithrombotischen Therapie durchgeführt.

Methodik

Review der aktuellen Datenlage anhand der Studienlage zu den verschiedenen Schwangerschaftskomplikationen.

Ergebnisse

Zunächst erfolgt eine Begriffsdefinition zu assoziierten Schwangerschaftskomplikationen. Diese werden in einer Tabelle nochmals ausführlich dargestellt.

Thrombophilie in der Schwangerschaft – Ute Scholz

Terminology	Definitions
Miscarriage	WHO revised glossary on ART terminology, 2009: pregnancy loss from the time of conception until 20 wk gestation RCOG guidelines 2011: spontaneous loss of pregnancy before the fetus has reached viability at 24 wk
First trimester	Time period extending from the first day of the last menstrual period through 12 wk gestation
Early pregnant loss and late pregnant loss	Revised terminology by the European Society of Human Reproduction and Embryology and NICE: loss of fetal heart activity prior to 12 wk gestation and late pregnancy loss for loss of fetal heart activity at or after 12 wk gestation
Recurrent miscarriage	RCOG guidelines 2011: three or more first-trimester miscarriages Recurrent pregnancy loss is a distinct disorder defined by two or more failed clinical pregnancies SIGEP/ESHRE 2005 and 2006: recurrent miscarriage consists of three early (< 12 wk) consecutive losses or two late consecutive (after 12, before 20 wk) pregnancy losses
SGA infant	SOGC and RCOG guidelines: a fetus in utero is an estimated fetal weight that measures < 10th percentile on ultrasound
IGUR	SOGC and RCOG guidelines: a fetus in utero is an estimated fetal weight that measures < 10th percentile on ultrasound that, due to a pathological process, has not attained its biologically determined growth potential
Preeclampsia	Systolic blood pressure > 140 mm Hg and /or diastolic blood pressure > 90 mm Hg associated with proteinuria or adverse conditions occurring after 20 wk gestation and no preexisting hypertensive disorder
Stillbirth	CEMACH 2009: a baby delivered with no signs of life known to have died after 24 completed weeks of pregnancy
IUFD	CEMACH 2009: a baby with no signs of life in utero
IVF failure	ESHRE/PGD consortium: more than three high-quality ETs or implantation failure with transfer of ≥ 10 embryos in multiple transfers with exact numbers to be determined by each center

Tab. 5: Definition und Terminologie der schwangerschaftsassozierten Komplikationen

Anhand aller derzeit verfügbaren Studien werden die einzelnen Parameter zu etablierten thrombophilen Störungen bewertet (Faktor V-Mutation (R506Q), Prothrombinmutation (G20210A), Antithrombin- Proetin C- und S-Mangel). Im Anschluss daran erfolgt eine eindeutige Empfehlung für alle entsprechenden klinischen Situationen, welche in der nachfolgenden Tabelle enthalten sind:

Clinical scenario	Personal recommendations
Recurrent early miscarriage/pregnancy loss	Inherited thrombophilia testing is NOT required Antithrombotic prophylaxis is NOT recommended during pregnancy even if a thrombophilic defect is found
Single or recurrent late miscarriage/pregnancy loss	Inherited thrombophilia testing is NOT required Antithrombotic prophylaxis is NOT recommended during pregnancy even if a thrombophilic defect is found
High risk of Preeclampsia	Low-dose aspirin should be started from the second trimester regardless of the presence of thrombophilia
Late pregnancy complications other than preeclampsia/eclampsia	Inherited thrombophilia testing or antithrombotic prophylaxis during pregnancy is NOT recommended
Women with IVF failure	Routine thrombophilia testing or thromboprophylaxis in women undergoing assisted reproduction is not recommended

Tab. 6: Empfehlungen für die Diagnostik der vererbaren Thrombophilie

Bedeutung für die klinische Praxis

In der vorliegenden Arbeit wird erstmals umfassend zur Diagnostik der hereditären Störungen bei Schwangerschaftskomplikationen einschließlich einer differenzierten Empfehlung Stellung genommen:

Derzeit besteht keine Indikation zur Diagnostik einer angeborenen Thrombophilie bei Patientinnen mit Schwangerschaftskomplikationen. Nur im Rahmen von Studien einschließlich Therapieaspekten sollte dieses erfolgen.

Highlight 3: Das Antiphospholipid-Syndrom in der Schwangerschaft

M. Kemp, W. Thomas Antiphospholipid syndrome in obstetrics. *Lupus* 2018; 27: 28-31

(23)

Hintergrund

Das Antiphospholipid-Antikörper-Syndrom kann in der Schwangerschaft ein weites Spektrum von klinischen Komplikationen aufweisen. Dabei können thrombembolische Ereignisse, aber auch Schwangerschaftskomplikationen (Aborte, Plazentadysfunktionen) auftreten.

Methodik

Der Artikel entwickelt anhand zweier typischer Fallbeispiele die verschiedene Diagnostik und die angepasste antikoagulatorische Therapie.

Ergebnisse

Die Inzidenz des Nachweises von Antiphospholipid-Ak ist bei ca. 2% der Schwangeren zu führen, der Nachweis erhöht sich auf bis zu 15% bei rezidivierenden Aborten.

Klinisch zeigen sich neben den rezidivierenden Aborten im ersten Trimester, Präeklampsie, Todgeburt und intrauterine Wachstumsretardierung. Bei den thrombembolischen Ereignissen bestehen nicht nur Verschlüsse im venösen, sondern auch im arteriellen Gefäßsystem.

In einer Übersichtstabelle werden im Text nochmal die diagnostischen Kriterien übersichtlich dargestellt:

Clinical criteria
<i>Vascular thrombosis</i>
<ul style="list-style-type: none">• ≥ 1 clinical episode of arterial, venous or small-vessel thrombosis.• Thrombosis must be objectively confirmed. If histopathological confirmation is used, thrombosis must be present without inflammation of the vessel wall.
<i>Pregnancy morbidity</i>
<ul style="list-style-type: none">• ≥ 1 unexplained death of a morphologically normal foetus ≥ 10 weeks of gestation• \geq premature delivery of a morphologically normal foetus < 34 weeks' gestation because of severe preeclampsia or eclampsia (defined according to standard definitions) or recognized features of placental insufficiency• ≥ 3 unexplained consecutive miscarriages at < 10 weeks of gestation, with maternal and paternal factors (such as anatomical, hormonal or chromosomal abnormalities) excluded
Laboratory criteria
<ul style="list-style-type: none">• The presence of antiphospholipid antibodies on ≥ 2 occasions at least 12 weeks apart and < 5 years before clinical manifestations, as demonstrated by ≥ 1 of the following:• Presence of lupus anticoagulant in plasma• Medium titre to high titre of anticardiolipin antibodies (> 40 GPL or MPL, or > 99th percentile) of IgG or IgM isotypes• Anti-$\beta 2$-glycoprotein 1 antibodies of IgG or IgM isotypes present in plasma (> 99th percentile)

Tab. 7: Diagnosekriterien des Antiphospholipid-Antikörpersyndroms

Nachfolgend werden im Text die unterschiedlichen therapeutischen Aspekte erläutert:

1. Bei positivem Nachweis ohne Thrombose: Acetylsalicylsäure (low dose) bis ca. 36. Schwangerschaftswoche und Heparinprophylaxe
2. Bei Patientinnen mit Nachweis und abgelaufenem thrombotischen Ereignis (und damit Indikation zur dauerhaften Antikoagulation): Acetylsalicylsäure und intermediäre/therapeutische Antikoagulation mit niedermolekularem Heparin

Bedeutung für die klinische Praxis

Die übersichtliche Arbeit zur erworbenen Thrombophilie und deren Auswirkungen ergibt eine gute Handlungsempfehlung für den klinischen Alltag (s. Ergebnisse)

Literatur

- 1 Linnemann B et al. : Diagnosis of pregnancy-associated venous thromboembolism - position paper of the Working Group in Women's Health of the Society of Thrombosis and Haemostasis (GTH). *Vasa*. 2016;45(2):87-101
- 2 Heit JA, Kobbervig CE, James AH et al. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: a 30-year population-based study. *Ann Intern Med*. 2005; 143: 697-706.
- 3 James AH, Jamison MG, Brancazio LR et al. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: incidence, risk factors, and mortality. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 194: 1311-1315.
- 4 Ray JG, Chan WS. Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a meta-analysis of the period of risk and the leg of presentation. *Obstet Gynecol Surv*. 1999; 54: 265-271.
- 5 Virkus RA, Løkkegaard EC, Bergholt T et al. Venous thromboembolism in pregnant and puerperal women in Denmark 1995-2005. A national cohort study. *Thromb Haemost*. 2011; 106: 304-309.
- 6 Simpson EL, Lawrenson RA, Nightingale AL et al. Venous thromboembolism in pregnancy and the puerperium: incidence and additional risk factors from a London perinatal database. *BJOG*. 2001; 108: 56-60.
- 7 Kamel H, Navi BB, Sriram N, Hovsepian DA et al. Risk of a thrombotic event after the 6-week postpartum period. *N Engl J Med*. 2014; 370: 1307-1315.
- 8 Sultan AA, West J, Tata LJ et al. Risk of first venous thromboembolism in and around pregnancy: a population-based cohort study. *Br J Haematol*. 2012; 156: 366-373.
- 9 Pomp ER, Lenselink AM, Rosendaal FR et al. Pregnancy, the postpartum period and prothrombotic defects: risk of venous thrombosis in the MEGA study. *J ThrombHaemost*. 2008; 6: 632-637.
- 10 Pabinger I, Grafenhofer H, Kaider A et al. Risk of pregnancy-associated recurrent venous thromboembolism in women with a history of venous thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2005; 3: 949-954.
- 11 De Stefano V, Martinelli I, Rossi E et al. The risk of recurrent venous thromboembolism in pregnancy and puerperium without antithrombotic prophylaxis. *Br J Haematol*. 2006; 135: 386-391.
- 12 Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Gent M et al.; Recurrence of Clot in This Pregnancy Study Group. Safety of withholding heparin in pregnant women with a history of venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2000; 343: 1439-1444.
- 13 Bezemer ID, van der Meer FJ, Eikenboom JC et al. The value of family history as a risk indicator for venous thrombosis. *Arch Intern Med*. 2009; 169: 610-615.
- 14 Robertson L, Wu O, Langhorne P et al.; Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. 2005; 132: 171-196.
- 15 Gerhardt A, Scharf RE, Zotz RB. Hereditary risk factors of thrombophilia and the individual probability of first venous thromboembolism (VTE) in pregnancy and puerperium. *J Thromb Haemost*. 2015; ABS1219
- 16 Gerhardt A, Scharf RE, Beckmann MW, Struve S et al. Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium. *N Engl J Med*. 2000; 342: 374-380..
- 17 Jacobsen AF, Skjeldestad FE, Sandset PM. Ante- and postnatal risk factors of venous thrombosis: a hospital-based case-control study. *J Thromb Haemost*. 2008; 6: 905-912.
- 18 Nelson-Piercy C, MacCallum P, Mackillop L. Reducing the risk of thrombosis and embolism during pregnancy and the puerperium (Green-top guideline no. 37a). *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*. 2015; 1-40.

Thrombophilie in der Schwangerschaft – Ute Scholz

- 19 Bergrem A, Astrup Dahm AE, Jacobsen AF et al. Resistance to activated protein C is a risk factor for pregnancy-related venous thrombosis in the absence of the F5 rs6025 (factor V Leiden) polymorphism. *Br J Haematol.* 2011; 154: 241–247.
- 20 Szecsi PB, Jørgensen M, Klajnbard A et al. Haemostatic reference intervals in pregnancy. *Thromb Haemost.* 2010; 103: 718-727.
- 21 Committee on Practice Bulletins: Inherited Thrombophilias in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2018 Jul;132(1):e18-e34.
- 22 Arachchillage DRJ, Makris M.: Inherited Thrombophilia and Pregnancy Complications: Should We Test? *Semin Thromb Hemost.* 2019 Feb;45(1):50-60. doi: 10.1055/s-0038-1657782. Epub 2018 Jun 4.
- 23 M. Kemp, W. Thomas: Antiphospholipid syndrome in obstetrics. *Lupus.* 2018.27: 28-31

Heparin-induzierte Thrombozytopenie

Prof. Dr. Andreas Greinacher

Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin

Universitätsmedizin Greifswald

E-Mail: greinach@uni-greifswald.de

State of the Art	3
Highlight 1: Fibronectin und HIT	5
Highlight 2: Polyreaktives IgM und Komplement-Aktivierung begünstigen die HIT Immunreaktion.....	9
Highlight 3: IV IgG ermöglicht die Gabe von Heparin trotz akuter Heparin-induzierter Thrombozytopenie	15
Literatur.....	18

State of the Art

Die Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) ist eine mittlerweile sehr bekannte unerwünschte Arzneimittelwirkung der Therapie mit stark negativ geladenen Medikamenten. Heparin ist dabei das am häufigsten involvierte Medikament (1). Heparin formt Komplexe mit dem positiv geladenen Chemokin Plättchenfaktor 4 (PF4). Hierbei ändert PF4 seine Konformation und induziert eine Immunantwort. Antikörper gegen PF4/Heparinkomplexe führen zur Aktivierung Thrombozyten und Monozyten über den FcγRIIa Rezeptor. Dies erhöht die Thrombin Generierung und das Risiko für neue thromboembolische Komplikationen. Wird die HIT nicht erkannt beträgt die Letalität ca. 20-30 %.

Risikofaktoren für die Entwicklung einer HIT sind die Gabe von unfraktioniertem Heparin und große Operationen, insbesondere an der Herz-Lungen-Maschine. Daneben gibt es genetische Dispositionen. Frauen haben ein etwas höheres Risiko als Männer und einige Polymorphismen in den Genen des FcRIIa und an seiner Signalkonstruktion beteiligter Proteine erhöhen das Risiko ebenfalls.

Für die Diagnostik stehen Antikörperteste zur Verfügung, die die Bindung von IgG Antikörpern an PF4/Heparinkomplexe messen und funktionelle Tests, die die Thrombozytenaktivierung durch die Antikörper messen. Dabei ist seit langem bekannt, dass funktionelle Tests eine höhere Prädiktivität für die klinische Relevanz der Antikörper haben, wenn gewaschene Thrombozyten verwendet werden.

Der gegenwärtige Standard der Diagnostik und Behandlung der HIT und die aktuellsten Empfehlungen sind zusammengefasst in den Ende 2018 erschienenen Guidelines der American Society Hematology (2). Mittlerweile stehen mehrere Medikamente zur alternativen Antikoagulation bei Patienten mit HIT zur Verfügung. Diese sind vor allem Danaparoid und Argatroban, aber auch Bivalirudin, Fondaparinux und die direkten oralen Antikoagulantien werden mit Erfolg eingesetzt. Keines dieser Medikamente ist so gut geeignet wie und fraktioniertes Heparin bei Patienten, die eine Operation unter Verwendung der Herz-Lungen-Maschine benötigen.

Autoimmun HIT

Die HIT ist wahrscheinlich eine fehlgeleitete Abwehrreaktion gegen Bakterien. PF4 bindet auch an negativ geladene Oberflächenstrukturen auf Bakterien. Dies führt zur gleichen Konformationsänderung wie die Bindung an Heparin. Dies erklärt, warum in seltenen Fällen Infektionen eine HIT auslösen können, auch ohne dass Heparin gegeben wurde. Diese seltenen Verläufe werden als autoimmun HIT bezeichnet (3-5). Die autoimmun HIT kann auch durch Heparin ausgelöst werden. Im Gegensatz zur heparin-abhängigen HIT, besteht das Krankheitsbild auch nach Absetzen des Heparins weiter. Ein weiterer Trigger können große Operationen sein, insbesondere Knieendoprothesen Operationen. In diesen Fällen wird durch die Blutleere viel RNA freigesetzt, welches auch mit PF4 komplexiert und die Immunreaktion auslöst. Die Behandlung von Patienten mit autoimmun HIT ist schwierig, weil der prothrombotische Zustand über Wochen bis Monate persistieren kann.

Heparin-induzierte Thrombozytopenie – Andreas Greinacher

Zum Verständnis des Pathomechanismus der HIT, zur Behandlung der autoimmunen HIT und zum Management von Patienten mit zirkulierenden, Plättchen aktivierenden HIT Antikörpern während der Operation an der Herz-Lungen-Maschine sind mehrere wichtige Publikationen innerhalb des letzten Jahres erschienen.

Highlight 1: Fibronectin und HIT

Krauel K, Preusse P, Warkentin TE, Trabhardt C, Brandt S, Jensch I, Mandelkow M, Hammer E, Hammerschmidt S, Greinacher A. Fibronectin modulates formation of PF4/heparin complexes and is a potential factor for reducing risk of developing HIT. Blood; doi 10.1182/blood-2018-05-850370; in press.

(6)

Hintergrund

Nur ein kleiner Teil der Patienten, die während der Behandlung mit Heparin anti-PF4/Heparin Antikörper bilden entwickelt das klinische Bild der HIT. Dies gilt auch für Patienten, in deren Plasma stark Thrombozyten-aktivierende Antikörper nachweisbar sind. Gleichzeitig ist bekannt, dass anti-PF4/Heparin Antikörper gewaschene Thrombozyten stärker aktivieren als Thrombozyten in Plasma. Dies ließ vermuten, dass ein Plasmafaktor für die Entstehung der HIT mitverantwortlich ist.

Methodik

Zunächst wurde das Plasma fraktioniert und mit der Massenspektrometrie Kandidaten-Proteine identifiziert, die die Interaktion von HIT Antikörpern mit Thrombozyten beeinflussen. Diese Interaktionen wurden durch ELISA, Durchflusszytometrie, Plasmon Resonanz und funktionelle Experimente weiter bestätigt. Dann wurde die Plasmakonzentration des wahrscheinlichsten Kandidaten Proteins in den Seren von Patienten aus prospektiven Studien zur Entwicklung der HIT bestimmt und mit der Stärke der Immunreaktion dem Auftreten von klinischer HIT korreliert.

Ergebnisse

Durch die Inkubation von Serum mit Sepharose wurde der Faktor, welcher die Aktivierung von Thrombozyten durch HIT Antikörper hemmt entfernt. In der Massenspektrometrie waren vor allem Fibronectin und Vitronectin und Alpha 2 Macroglobulin an die Sepharose gebunden. In weiteren Experimenten zeigte dann Fibronectin eine starke Interaktion mit PF4, verhinderte die Bindung von PF4 an Thrombozyten, löste PF4/Heparinkomplexe auf und hemmte über beide Mechanismen sowohl die Antikörperbindung an ihr Antigen, als auch die Thrombozyten. Die fibronectin Spiegel in Plasmen von Patienten waren am niedrigsten bei Patienten die das klinische Bild der HIT entwickelt haben, etwas höher bei den Patienten die Antikörper gegen PF4/Heparinkomplexe gebildet haben, aber keine HIT und am höchsten bei den Patienten die keine Antikörper gebildet haben.

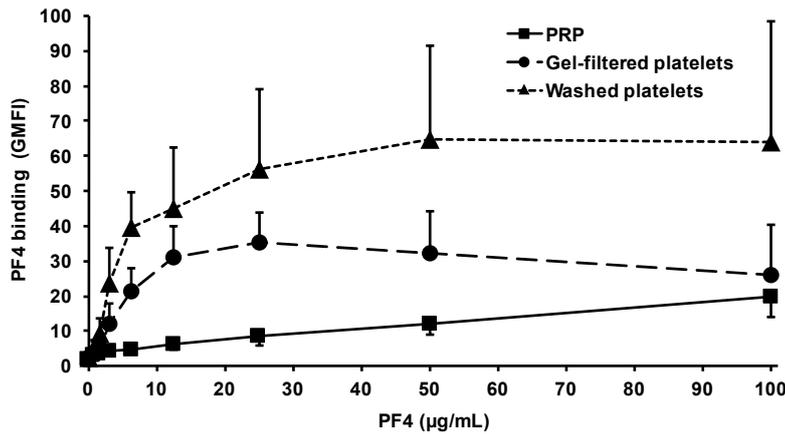


Abb. 1: Plättchenreiches Plasma (PRP), filtrierte oder gewaschene Thrombozyten wurden mit steigenden Konzentrationen an PF4 inkubiert. Die Bindung von PF4 an Thrombozyten wurden mit einem Antikörper nachgewiesen. Gewaschene Thrombozyten binden PF4 am stärksten, Plasma hemmt die Bindung deutlich (6).

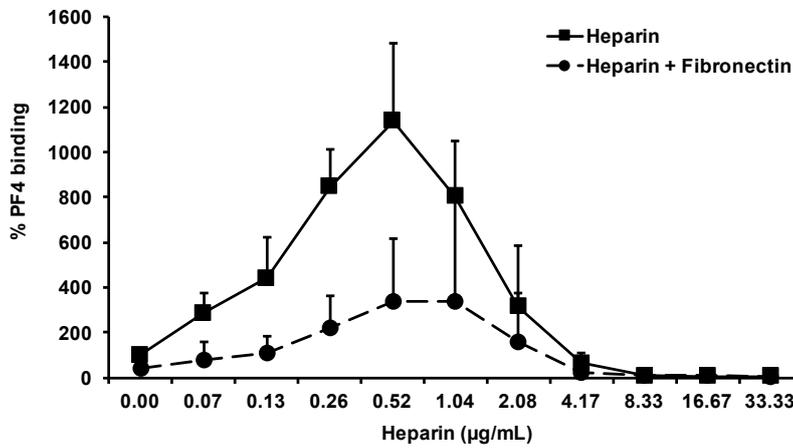


Abb. 2: Gel filtrierte Thrombozyten wurden mit steigenden Konzentrationen an Heparin oder Heparin plus 50 µg/mL Fibronectin inkubiert. Fibronectin hemmt die Bindung von PF4 an Thrombozyten (6).

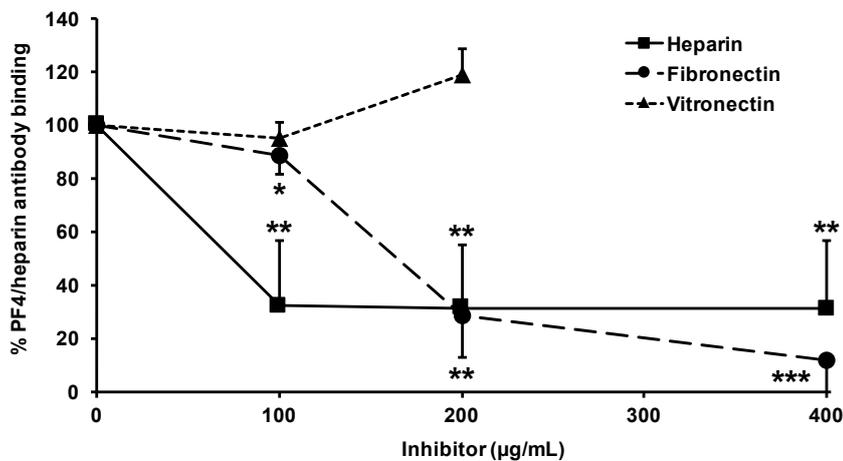


Abb. 3: Steigende Konzentrationen an Fibronectin hemmen die Bindung von Anti-PF4/Heparin Antikörper im ELISA (6).

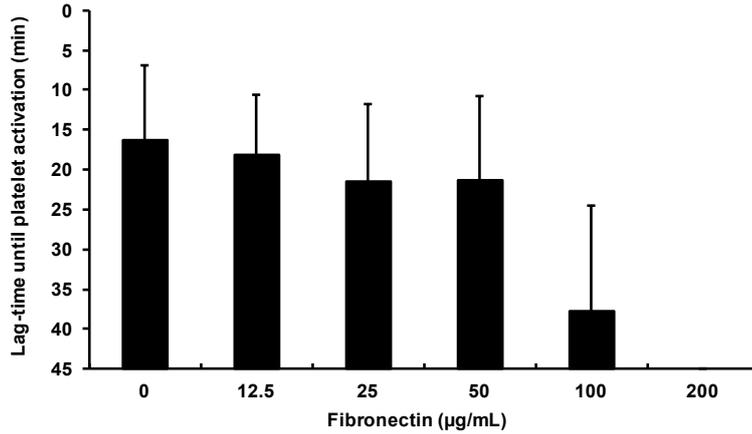


Abb. 4: Steigende Konzentrationen an Fibronectin hemmen die Thrombozyten Aktivierung durch Anti-PF4/Heparin Antikörper im Funktionstest. (6).

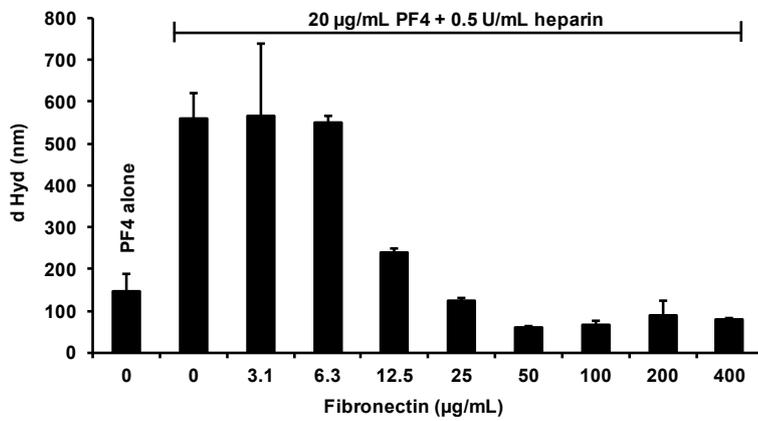


Abb. 5: Fibronectin löst PF4/Heparinkomplexe auf, hier gezeigt durch die Veränderung der Komplexgröße in der Photon-korrelations Spectroskopie (6).

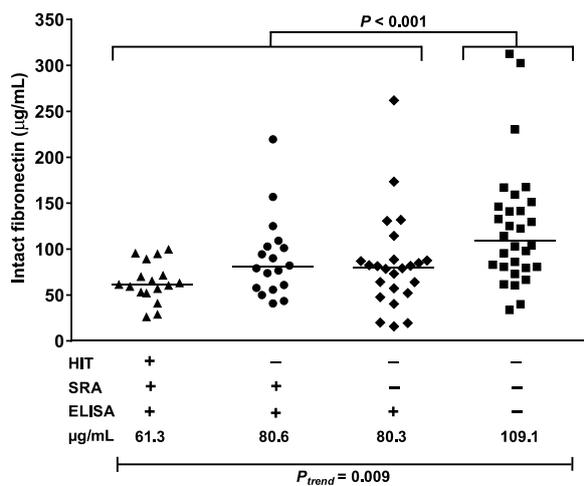


Abb. 6: Die Fibronectin Spiegel in Plasmen von Patienten aus einer großen prospektiven Studie zur Inzidenz der HIT zeigen eine starke Korrelation sowohl mit der Bildung von anti-PF4/Heparin Antikörpern, als auch mit der Manifestation der klinischen HIT (6).

Bedeutung für die klinische Praxis

Diese Untersuchungen zeigen zum ersten Mal, warum HIT Tests mit gewaschenen Thrombozyten sensitiver sind als HIT Tests, die Vollblut oder plättchenreiches Plasma verwenden. Sie bieten auch eine Erklärung, warum nach großen Operationen die HIT häufiger auftreten kann, da großer Operationen mit einem Abfall der Fibronectin Werte assoziiert sind. Für die Behandlung der HIT sind diese Ergebnisse relevant, wenn zur Vorbereitung einer Operation bei noch zirkulierenden HIT Antikörpern eine Plasmapherese durchgeführt wird. Hier sollte der Austausch unbedingt mit Plasma und nicht mit Albumin durchgeführt werden, damit die Fibronectin Spiegel nicht weiter gesenkt werden.

Highlight 2: Polyreaktives IgM und Komplement-Aktivierung begünstigen die HIT Immunreaktion

Khandelwal S, Ravi J, Rauova L, Johnson A, Lee GM, Gilner JB, Gunti S, Notkins AL, Kuchibhatla M, Frank M, Poncz M, Cines DB, Arepally GM. Polyreactive IgM initiates complement activation by PF4/heparin complexes through the classical pathway. Blood. 2018; 132 (23): 2431-2440.

(7)

Hintergrund

Der Mechanismus der Immunisierung gegen PF4/Heparinkomplexe ist weitestgehend unklar.

Methodik

In vitro Studien zur Interaktion von PF4/Heparinkomplexen mit Komplement und zur Bindung von PF4/Heparinkomplexen an B-Lymphozyten.

Ergebnisse

PF4/Heparinkomplexe aktivieren Komplement im Plasma gesunder Probanden. Dabei entstehen C3c Komplexe, welche an PF4/Heparinkomplexe binden. Die Stärke der Komplementaktivierung durch PF4/Heparinkomplexe korreliert stark mit den Plasma IgM Spiegeln und bleibt bei einzelnen Individuen über lange Zeit konstant. Es sind vor allem polyreaktive IgM Antikörper, die an PF4/Heparinkomplexe binden. PF4/Heparinkomplexe, die mit C3c und IgM beladen sind, binden an den Komplementrezeptor auf B-Zellen. Hierüber werden B-Zellen aktiviert und bilden Anti PF4/Heparin Antikörper.

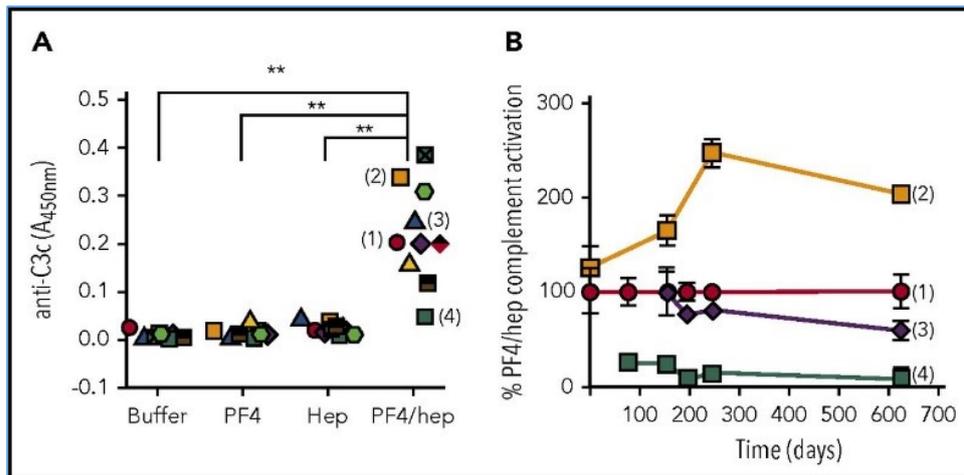


Abb. 7: die Komplementaktivierung durch PF4/Heparinkomplexe unterscheidet sich zwischen gesunden Individuen. A) Plasma von gesunden Spendern (n = 10) wurde mit Puffer, PF4, Heparin oder PF4/Heparinkomplexen inkubiert und die Bindung von C3c an die Komplexe mit einem ELISA gemessen. Die Abbildung zeigt die C3c Bindung an die Komplexe Jedes Symbol zeigt ein einzelnes Individuum. B) das Experiment wurde über 1,7 Jahre wiederholt. Dabei waren die relativen Unterschiede zwischen den verschiedenen Individuen konstant (7).

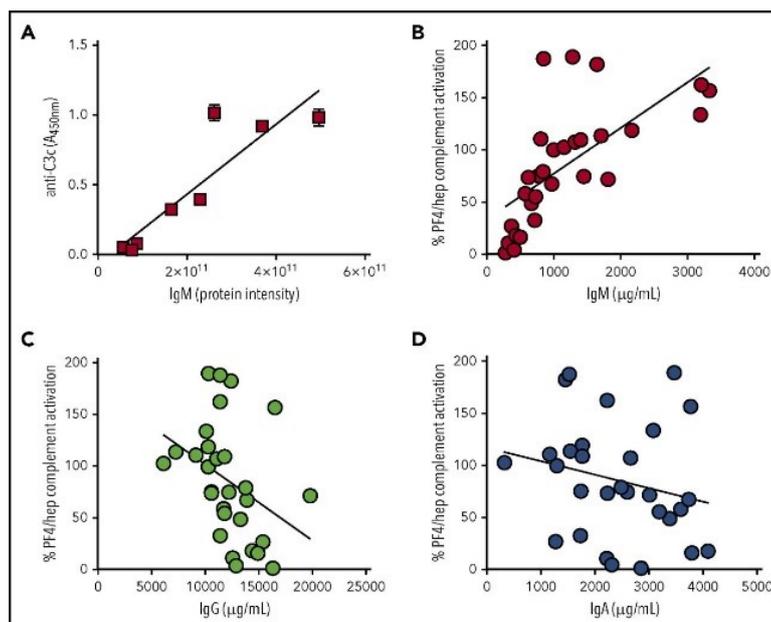


Abb. 8: Die Aktivierung von Komplement im Plasma gesunder Probanden korreliert mit der Konzentration an IgM Molekülen. Complement activation by PF4/heparin correlates with plasma/serum IgM levels. (A) Proteomic analysis of plasmas with a high, intermediate, or low complement response phenotype shows strong correlation with plasma IgM. Graph shows IgM protein intensity determined by proteomic analysis (x-axis) and complement activation response to PF4/heparin, as measured by the antigen-C3c capture ELISA assay (y-axis). (B-D) Serum immunoglobulin levels (IgM, IgG, and IgA) from 29 healthy donors were measured in the clinical laboratory and correlated with an individual's complement activation response to PF4/heparin, as measured by the antigen-C3c capture ELISA assay. Graphs show correlation of complement activation (y-axis) as a function of immunoglobulin levels (x-axis). Each symbol in the graph represents an individual donor. Complement activation values were normalized to an intermediate donor studied in parallel (7).

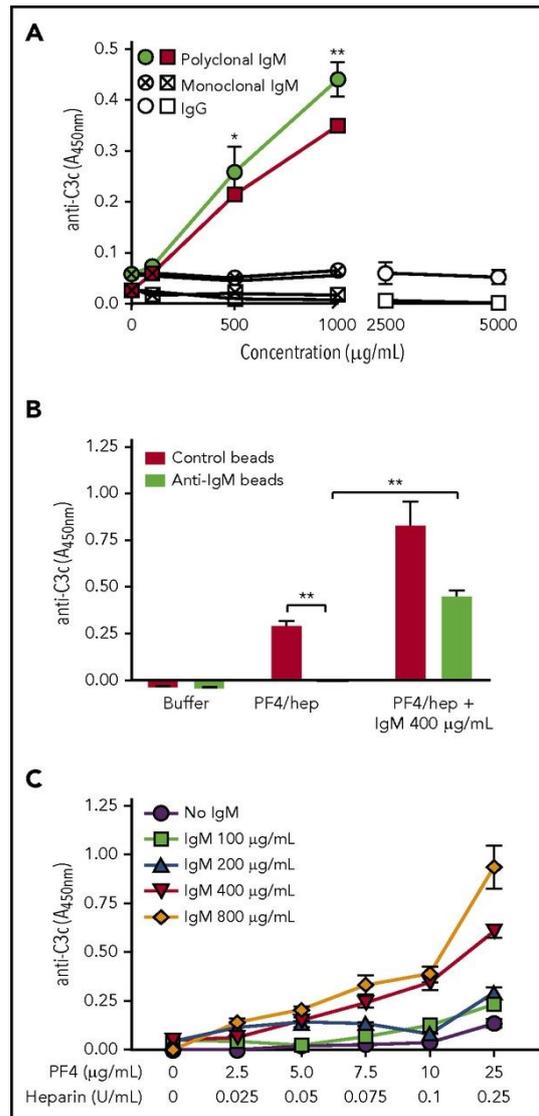


Abb. 9: Die Aktivierung von Komplement wird durch Plasma IgM verstärkt. Plasma IgM mediates complement activation by PF4/heparin complexes. (A) Commercial IgM (0-1000 µg/mL; filled symbols) or IgG (0-5000 µg/mL; open symbols) or monoclonal myeloma IgM (0-1000 µg/mL; hatched symbols) was added to the plasmas of 2 donors with a low complement response type (circle/square), and complement activation by PF4/heparin was measured by the antigen-C3c capture ELISA assay. Graph shows complement activation (y-axis) as a function of added immunoglobulin concentration. (B) Plasma with an intermediate donor phenotype was incubated with anti-IgM or control beads, followed by the addition of buffer, PF4/heparin, or PF4/heparin +400 µg/mL IgM, and complement activation was measured by the antigen-C3c capture ELISA assay. Graph shows complement activation (y-axis) in control or IgM depleted plasma (x-axis). (C) Plasma with a low donor phenotype was incubated with varying antigen concentrations (PF4; 0-25 µg/mL + heparin; 0-0.25 U/mL) and IgM (0-800 µg/mL), and complement activation was measured by the antigen-C3c capture ELISA assay. Graph shows complement activation response at varying IgM concentrations (y-axis) as a function of PF4/heparin concentrations (x-axis). *P < .005; **P < .0001. Results are shown from a representative experiment involving 3 donors tested on 3 different occasions.

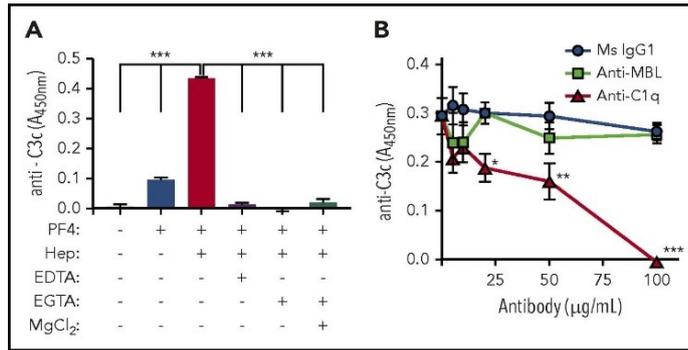


Abb. 10: Die Komplementaktivierung durch PF4/Heparin Komplexe erfolgt über den klassischen Aktivierungsweg. PF4/heparin activate complement by classical pathway. (A) Plasma from a healthy donor was incubated with EDTA (10 mM) or EGTA (10 mM) ± MgCl₂ (10 mM) or with buffer before incubating with PF4/heparin and complement activation was measured by the antigen-C3c capture ELISA assay. The y-axis shows the complement activation in different incubation conditions. ***P < .0001. (B) Plasma from a healthy donor was incubated with various concentration of anti-C1q antibody, anti-MBL antibody, or control antibody (0-100 µg/mL) before adding PF4/heparin and complement activation by PF4/heparin was determined by the antigen-C3c capture ELISA assay. The y-axis shows the complement activation in presence of various antibodies. *P < .05; **P < .001; ***P < .0001 compared with no antibody added condition. Results are shown from a representative experiment involving 3 donors tested on 3 different occasions (7).

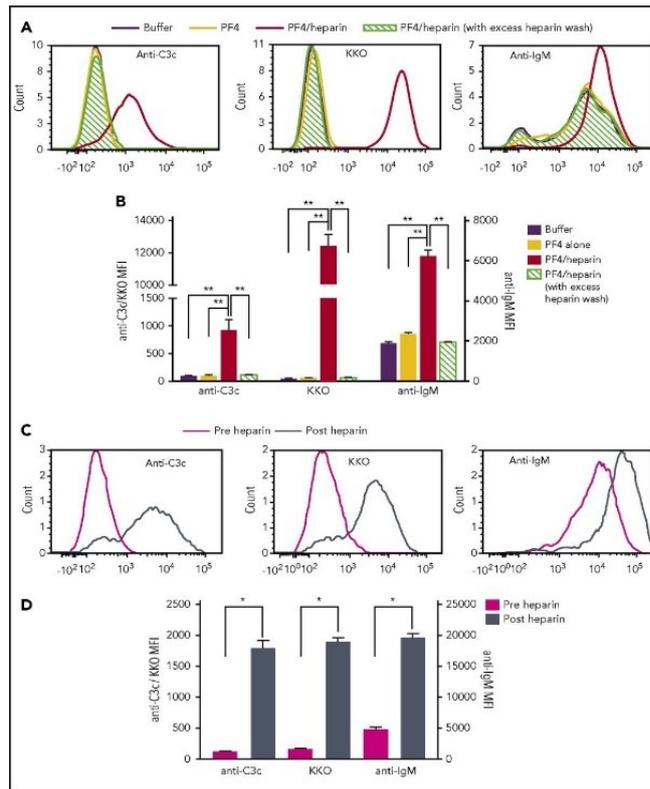


Abb. 11: Plasma IgM bindet an PF4/Heparinkomplexe und bindet zusammen mit Komplementfragmenten über den Komplementrezeptor an B-Zellen. Plasma IgM colocalizes with PF4/heparin and C3 fragments on B cells in healthy donors and patients on heparin therapy. (A-B) Whole blood from a representative healthy donor was incubated with buffer or PF4 (25 µg/mL) ± heparin (0.25 U/mL) and binding of C3c, PF4/heparin, and IgM on B cells was determined by flow cytometry. Binding of C3c/anti-PF4/heparin (KKO)/IgM to B cells is shown with and without PF4 ± heparin by histogram overlays in normal and excess heparin wash conditions (A) and as mean fluorescent intensity (B). Results are shown from a representative experiment involving 3 donors tested on 3 different occasions. (C-D) Binding of C3c, PF4/heparin, and IgM on B cells in the circulation of heparinized patients was determined by flow cytometry. Binding of C3c/anti-PF4/heparin (KKO)/IgM to B cells is shown pre- and postheparin exposure in the patient by overlay histograms (C) and as mean fluorescence intensity (D). Results are shown from 1 representative patient out of 3 patients studied. *P < .005; **P < .0001 (7).

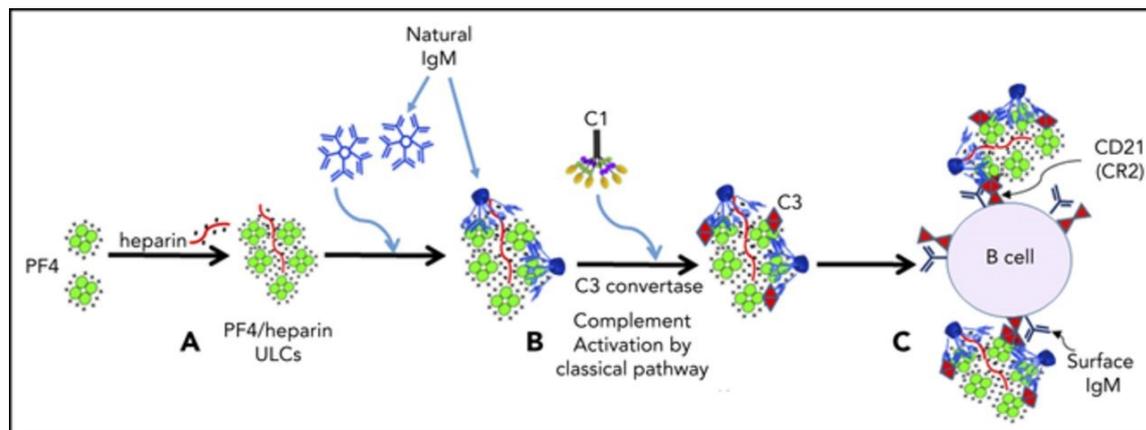


Abb. 12: Mechanismus der Immunisierung gegen PF4/Heparinkomplexe. PF4 bildet Komplexe mit Heparin. Daran binden natürliche IgM Antikörper. IgM aktiviert Komplement und das aktivierte Komplement bindet über den CD 21 Komplementrezeptor auf B-Zellen. Diese Bindung wird durch IgM verstärkt (7).

Bedeutung für die klinische Praxis

Zunächst geben diese Daten eine Erklärung dafür, warum sich die Immunisierungswahrscheinlichkeit gegen PF4/Heparinkomplexe zwischen verschiedenen Menschen unterscheidet. Sie weisen darauf hin, dass klinische Situationen, in denen viel Komplement aktiviert das Risiko für die HIT wahrscheinlich erhöhen. Dies kann eine Erklärung dafür sein, warum vor 20 Jahren die HIT vor allem nach großen orthopädischen Operationen aufgetreten ist, während sie heute bei diesen Eingriffen fast nicht mehr auftritt. Wahrscheinlich sind die weniger traumatischen modernen Operationstechniken mit einer geringeren Aktivierung von Komplement verbunden. Bei Patienten, die Heparin erhalten, sollte die Komplementaktivierung möglichst vermieden werden.

Die Daten zeigen aber auch, dass die HIT eine Immunreaktion ist, die zwischen der angeborenen und der spezifischen Immunität einzuordnen ist. Ein besseres Verständnis dieser Mechanismen hat große Bedeutung für das Verständnis anderer Immunreaktionen, zum Beispiel der zugrunde liegenden Mechanismen des Antiphospholipid-Syndroms oder der thrombotisch thrombozytopenischen Purpura.

Highlight 3: IV IgG ermöglicht die Gabe von Heparin trotz akuter Heparin-induzierter Thrombozytopenie

Warkentin TE, Climans TH, Morin PA. Intravenous Immune Globulin to Prevent Heparin-Induced Thrombocytopenia. N Engl J Med. 2018; 378 (19): 1845-1848.

(8)

Hintergrund

Zur Behandlung der Heparin-induzierten Thrombozytopenie steht mittlerweile eine Vielzahl von Medikamenten zur Verfügung. Schwierig wird die Behandlung in Situationen, in denen unfraktioniertes Heparin benötigt wird, wie zum Beispiel Operationen an der Herz-Lungen-Maschine oder größere gefäßchirurgische Eingriffe.

Methodik

Fallbericht eines Patienten mit HIT in der Anamnese und stark Thrombozyten-aktivierenden Antikörpern, der einen dringenden gefäßchirurgischen Eingriff benötigte aufgrund einer bilateralen Thrombose der Arteria femoralis. Der Patient hat 9 Stunden vor der Operation 1 g IgG pro Kilogramm Körpergewicht erhalten (90 g) und nochmals 90 g intraoperativ.

Ergebnisse

Die Operation wurde mit Heparin durchgeführt, ohne dass es zu weiteren Komplikationen oder einem Thrombozytenabfall gekommen ist. Durch die hohe IgG Konzentration im Serum blieb der Funktionstest für zwei Tage negativ. Der Patient hat die Operation gut überstanden.

Bedeutung für die klinische Praxis

Die Gabe von IV IgG in einer Konzentration von 2×1 g/Kilogramm Körpergewicht kann eine Option sein, um in besonders schwierigen Situationen die die Aktivierung von Thrombozyten durch HIT Antikörper zu hemmen und erlaubt sogar die Gabe von Heparin. Dies kann zukünftig eine weitere Option darstellen für Patienten die dringlich eine Operation an der Herz-Lungen-Maschine benötigen, die nicht ausreichend geplant und vorbereitet werden kann, zum Beispiel bei Herztransplantation. Damit stehen jetzt mehrere Optionen zur Verfügung, um Patienten mit akuter Heparin-induzierte Thrombozytopenie zu behandeln:

- 1.) Heparin absetzen und mit einem alternativen Antikoagulans in therapeutischer Dosierung antikoagulieren.
- 2.) In klinischen Situationen, in denen der prothrombotische Pathomechanismus unterbrochen werden muss (9, 10): zusätzlich hochdosiert IV IgG (2×1 g/Kilogramm Körpergewicht), zum Beispiel bei Patienten mit Sinus Venenthrombose, oder HIT in der Schwangerschaft, oder autoimmun HIT.

- 3.) In klinischen Situationen in denen noch Thrombozyten-aktivierende Antikörper im Blut des Patienten nachweisbar sind und trotzdem ein Eingriff erforderlich ist, bei dem Heparin gegeben werden muss (11):
- Gabe von hochdosiertem IV IgG und dann kurzfristige Exposition intraoperativ mit Heparin. Vor und nach dem Eingriff Behandlung mit einem alternativen Antikoagulans.
 - Plasmapherese zur Entfernung Thrombozyten-aktivierender Antikörper und dann kurzfristige Exposition intraoperativ mit Heparin. Vor und nach dem Eingriff Behandlung mit einem alternativen Antikoagulans. Dies erfordert mindestens 2-3 Plasmapheresen um ausreichend Antikörper zu entfernen und es damit nicht geeignet für nur kurzfristig planbare Eingriffe wie zum Beispiel Herztransplantation.

Figure 1 (facing page). High-Dose Intravenous Immune Globulin for Prevention of Recurrent Heparin-Induced Thrombocytopenia in the Patient.

Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) was diagnosed when the platelet count decreased from 158,000 to 34,000 per cubic millimeter (reference range, 150,000 to 400,000) after right femoral–popliteal artery bypass surgery. The patient had received an 8-day course of therapeutic-dose unfractionated heparin immediately before surgery for treatment of acute limb ischemia related to bilateral femoral-artery atherothrombosis (Panel A). PTT denotes partial thromboplastin time. An anti-platelet factor 4 (PF4)–heparin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IgG was strongly positive for HIT at 2.66 optical-density units (normal value, <0.45). The serotonin-release assay, a test for heparin-dependent platelet-activating antibodies, also was strongly positive for HIT (100% serotonin release at 0.1 and 0.3 U per milliliter of heparin; normal value, <20%). Approximately 100 days after the diagnosis of HIT, the patient underwent urgent left femoral–popliteal artery bypass surgery (Panel B). Since the patient’s serum continued to test strongly positive for heparin-dependent platelet-activating antibodies (100% serotonin release), he received two 90-g doses of intravenous immune globulin (IVIg) (Gamunex 10%). The platelet count was 130,000 per cubic millimeter immediately before 7000 units of heparin were administered intraoperatively and remained at this level 2 hours after the intraoperative heparin bolus was administered; this provided strong evidence of in vivo inhibition of the patient’s heparin-dependent platelet-activating antibodies by high-dose IVIg. The addition of IVIg (Gamunex) inhibited the heparin-dependent platelet-activating properties of the serum (day 89) in a dose-dependent fashion (Panel C). These observations provided the rationale for using IVIg to permit reexposure to heparin for urgent vascular surgery, even though the patient’s serum tested strongly positive for heparin-dependent platelet-activating antibodies. The patient’s preoperative serum, which produced 100% serotonin release, tested negative with the use of serum obtained immediately after the first dose of IVIg (17% serotonin release) and second 90-g dose of IVIg (2% serotonin release) (Panel D). The inhibitory effects of IVIg were transient; heparin-dependent, platelet-activating properties returned to near-maximal levels (92% serotonin release) by 7 days after surgery (day 113). Furthermore, the data show an inverse relationship between the serum concentration of IgG and the magnitude of serum-induced heparin-dependent platelet activation (shown as a percentage of serotonin release at 0.3 U per milliliter of heparin).

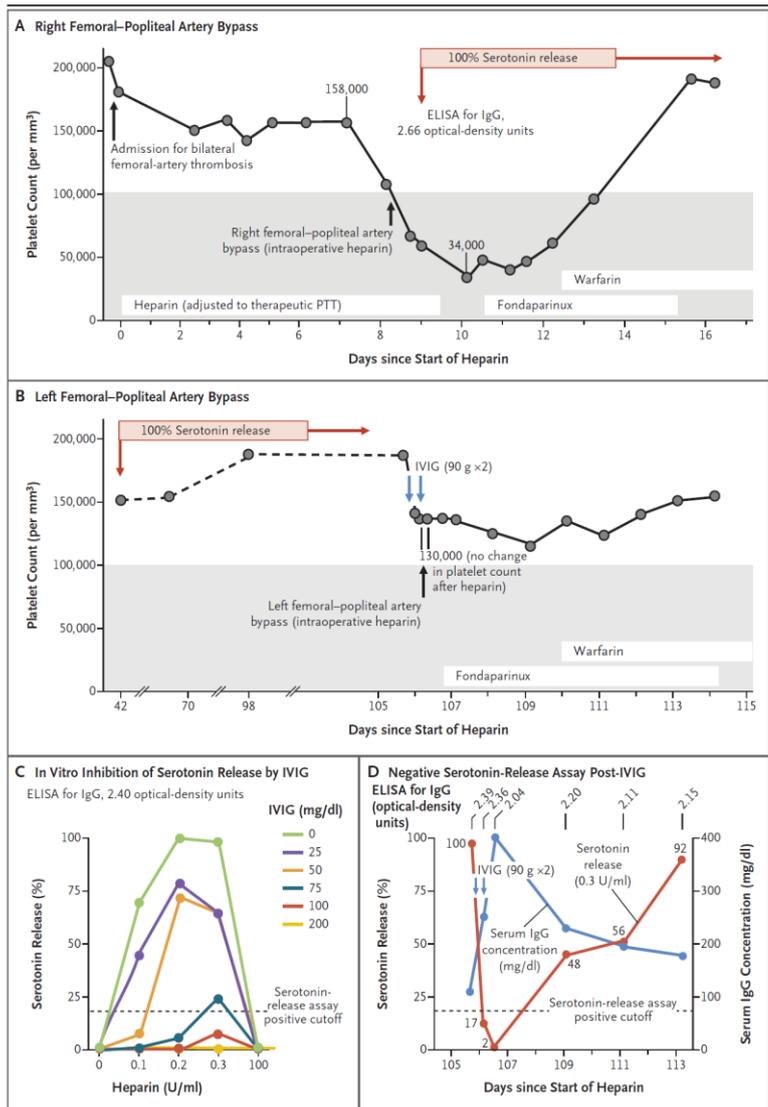


Abb. 13: Gabe von intravenösem IgG erlaubt die intraoperative Behandlung mit Heparin trotz zirkulierender, Thrombozyten-aktivierender HIT Antikörper (8).

Literatur

1. Greinacher A. Heparin-Induced Thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 2015; 373 (19): 1883-1884.
2. Cuker A, Arepally GM, Chong BH, Cines DB, Greinacher A, Gruel Y, Linkins LA, Rodner SB, Selleng S, Warkentin TE, Wex A, Mustafa RA, Morgan RL, Santesso N. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: heparin-induced thrombocytopenia. *Blood Adv.* 2018; 2 (22): 3360-3392.
3. Nguyen TH, Medvedev N, Delcea M, Greinacher A. Anti-platelet factor 4/polyanion antibodies mediate a new mechanism of autoimmunity. *Nat Commun.* 2017; 8: 14945.
4. Greinacher A, Selleng K, Warkentin TE. Autoimmune heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost.* 2017; 15 (11): 2099-2114.
5. Poudel DR, Ghimire S, Dhital R, Forman DA, Warkentin TE. Spontaneous HIT syndrome post-knee replacement surgery with delayed recovery of thrombocytopenia: a case report and literature review. *Platelets.* 2017; 28 (6): 614-620.
6. Krauel K, Preusse P, Warkentin TE, Trabhardt C, Brandt S, Jensch I, Mandelkow M, Hammer E, Hammerschmidt S, Greinacher A. Fibronectin modulates formation of PF4/heparin complexes and is a potential factor for reducing risk of developing HIT. *Blood.* 2018; in press.
7. Khandelwal S, Ravi J, Rauova L, Johnson A, Lee GM, Gilner JB, Gunti S, Notkins AL, Kuchibhatla M, Frank M, Poncz M, Cines DB, Arepally GM. Polyreactive IgM initiates complement activation by PF4/heparin complexes through the classical pathway. *Blood.* 2018; 132 (23): 2431-2440.
8. Warkentin TE, Climans TH, Morin PA. Intravenous Immune Globulin to Prevent Heparin-Induced Thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 2018; 378 (19): 1845-1848.
9. Park BD, Kumar M, Nagalla S, De Simone N, Aster RH, Padmanabhan A, Sarode R, Rambally S. Intravenous immunoglobulin as an adjunct therapy in persisting heparin-induced thrombocytopenia. *Transfus Apher Sci.* 2018; 57 (4): 561-565.
10. Padmanabhan A, Jones CG, Pechauer SM, Curtis BR, Bougie DW, Irani MS, Bryant BJ, Alperin JB, Deloughery TG, Mulvey KP, Dhakal B, Wen R, Wang D, Aster RH. IVIg for Treatment of Severe Refractory Heparin-Induced Thrombocytopenia. *Chest.* 2017; 152 (3): 478-485.
11. Salter BS, Weiner MM, Trinh MA, Heller J, Evans AS, Adams DH, Fischer GW. Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Comprehensive Clinical Review. *J Am Coll Cardiol.* 2016; 67 (21): 2519-2532.

Nicht alltäglich: Interaktive Falldemonstration

Prof. Dr. Bettina Kemkes-Matthes

Interdisziplinärer Schwerpunkt Hämostaseologie

Universitätsklinikum Gießen und Marburg

E-Mail: bettina.kemkes-matthes@innere.med.uni-giessen.de

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

über Ihre Teilnahme an der ersten GTH Highlights Veranstaltung freuen wir uns sehr.

Für meine Fall Demonstrationen wird es allerdings kein Manuskript geben – sonst wäre die Spannung dahin. Folien und Literaturhinweise werde ich aber – genau wie für die übrigen Vorträge - zur Verfügung stellen, obwohl das bei „Case Reports“ nicht selbstverständlich ist. Versprechen kann ich Ihnen schon heute, dass ich Fälle kreuz und quer durch die gesamte Hämostaseologie demonstrieren werde – von reinen Laborproblemen bis hin zu hereditären und erworbenen thrombophilen und hämorrhagischen Diathesen. Seien Sie gespannt!

Ihre

Bettina Kemkes-Matthes