

# Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien

**Interdisziplinäre S2k-Leitlinie  
der Ständigen Kommission Pädiatrie der Gesellschaft für  
Thrombose- und Hämostaseforschung e.V. (GTH)**

Langversion

AWMF-Registernummer  
086-003

ICD10-Code  
Thrombozytopathie D69.1  
Thrombozytopenie D69.4

Stand  
Juli 2024



## **AutorInnen**

### Gesamtverantwortliche:

Werner Streif, Ralf Knöfler, Jennifer Gebetsberger

### Abschnittsverantwortliche:

*Diagnosealgorithmus:* Doris Böckelmann, Jennifer Gebetsberger, Susanne Holzhauer, Beate Kehrel, Ralf Knöfler, Martin Olivieri, Werner Streif, Barbara Zieger

*Präanalytik:* Kerstin Jurk, Barbara Zieger

*Aggregometrie:* Karina Althaus, Ingvild Birschmann, Kerstin Jurk, Michael Krause, Ralf Knöfler, Florian Prüller, Oliver Tiebel

*Durchflusszytometrie:* Oliver Andres, Kerstin Jurk, Kristina Mott, Harald Schulze, Barbara Zieger

*Immunfluoreszenzmikroskopie:* Karina Althaus, Tamam Bakchoul

*Spezialisierte Analysen zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik:* Lorenzo Alberio, Kerstin Jurk, Beate Kehrel

*Molekulargenetische Methoden:* Doris Böckelmann, Jennifer Gebetsberger, Kristina Mott, Anna Pavlova, Harald Schulze, Barbara Zieger

*Zukünftige Entwicklungen:* Frauke Bergmann, Jennifer Gebetsberger, Ralf Knöfler, Werner Streif

## **KoautorInnen**

Matthias Ballmaier, Karin Beutel, Holger Cario, Christof Dame, Wolfgang Eberl, Johanna Gebhart, Sebastian Hütker, Manuela Krause, Oliver Meyer, Annelie Siegemund, Gabriele Strauß, Verena Wiegering, Ivonne Wieland, Carlo Zaninetti

## Was gibt es Neues?

In der aktuellen Fassung der Leitlinie wurden basierend auf den neuesten wissenschaftlichen Daten und klinischen Erkenntnissen bedeutende Aktualisierungen und Ergänzungen vorgenommen. Eine detaillierte Darstellung der Veränderungen, inklusive der überarbeiteten Aussagen und ergänzten Literaturquellen, findet sich in den entsprechenden Kapiteln. Wesentliche Neuerungen umfassen die Einführung von Kapiteln zur *Präanalytik* und *Thrombozyten-abhängigen Thrombinbildung*, sowie ein Ausblick auf *zukünftige Entwicklungen*. Des Weiteren sind nun praxisorientierte Handlungsempfehlungen am Ende jedes Kapitels implementiert, um die klinische Anwendung der Leitlinie zu vereinfachen und die Diagnosedstellung von Thrombozytenfunktionsstörungen zu präzisieren.

## Die wichtigsten Empfehlungen auf einen Blick

### **Kapitel** **Diagnosealgorithmus** Seiten 23-35

- **Zur Beurteilung der Blutungsneigung soll ein standardisierter Fragebogen eingesetzt werden.**  
Konsensstärke: 96 %; NEU (2024)
- **Bei Verdacht auf eine angeborene Störung der Thrombozytenfunktion (inherited platelet defects, IPD) soll zunächst ein Blutbild mit Differentialblutbild, einschließlich Thrombozytengrößenverteilung, mittleres Thrombozytenvolumen (MPV) und soweit verfügbar Quantifizierung der immaturen Plättchenfraktion (IPF), durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Eine mikroskopisch-morphologische Zellbeurteilung an routinemäßig gefärbten Blutaussstrichen soll durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Bei wiederholter, klinisch relevanter, nicht anderweitig erklärbarer Blutungsneigung soll eine erweiterte Gerinnungsdiagnostik, einschließlich der hier angeführten Thrombozytentests, durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; NEU (2024)

### **Kapitel** **Präanalytik** Seiten 35-37

- **Medikamente und Nahrungs(ergänzungs)mittel, die die Thrombozytenfunktion beeinträchtigen, sollen, soweit medizinisch vertretbar, rechtzeitig vor der Thrombozytenfunktionsanalytik abgesetzt bzw. pausiert werden.**  
Konsensstärke: 95 %; NEU (2024)

- **Die Blutabnahme für die Thrombozytenfunktionsdiagnostik soll nicht direkt nach Venenpunktion erfolgen.**  
Konsensstärke: 90 %; NEU (2024)
- **Bei der Blutabnahme für die Thrombozytenfunktionsanalytik sollen Schaumbildung und zu schnelles Abziehen vermieden werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Unter- und überfüllte Blutabnahmeröhrchen mit Citrat als Antikoagulans sollen nicht weiterverarbeitet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Blutproben sollen bei Raumtemperatur ohne Schütteln und mechanischen Stress transportiert werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Der Versand von Blutproben für die durchflusszytometrische Analyse soll nur eingeschränkt, nach Absprache mit dem analysierenden Labor, erfolgen.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Die aggregometrische Analyse einer Blutprobe soll vier Stunden nach Blutabnahme abgeschlossen sein.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)

**Kapitel**  
**Aggregometrie**  
Seiten 37-49

- **Die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) soll zur Diagnose von IPDs verwendet werden.**  
Konsensstärke: 90 %; NEU (2024)
- **Bei der LTA soll neben der max. Aggregation (%) auch der Kurvenverlauf (lag-time, Aggregationsgeschwindigkeit, Desaggregation) bewertet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Pathologische Aggregometrie-Befunde soll in einer separaten Folgeuntersuchung validiert werden.**  
Konsensstärke: 94 %; NEU (2024)

**Kapitel**  
**Durchflusszytometrie**  
Seiten 49-59

- **Die Durchflusszytometrie soll zur Diagnose der Thrombasthenie Glanzmann, des Bernard-Soulier Syndrom und Storage-Pool-Erkrankungen verwendet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Zur Validierung soll die Durchflusszytometrie mit anderen spezialisierten Tests der Thrombozytenfunktionsanalyse kombiniert werden.**  
Konsensstärke: 81 %; NEU (2024)
- **Geräte- und methodenspezifische, laborinterne Referenzbereiche sollen erstellt und Messungen mit regelmäßigen Kontrollproben durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; NEU (2024)
- **Das Alter soll bei der Ergebnisbewertung berücksichtigt werden (insbesondere bei Kindern).**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)

**Kapitel****Immunfluoreszenz-  
mikroskopie**

Seiten 59-61

- **Das Anfertigen von Blutaussstrichen soll nur aus frischem EDTA-Blut (bei Raumtemperatur) erfolgen.**  
Konsensstärke: 100 %; NEU (2024)
- **Bei Durchführung der Färbung soll immer eine Kontrolle im Labor mitgeführt werden.**  
Konsensstärke: 82 %; NEU (2024)

**Kapitel****Molekulargenetische  
Methoden**

Seiten 63-67

- **Die Molekulargenetik soll zur Diagnose von angeborenen Störungen der Thrombozyten verwendet werden.**  
Konsensstärke: 95 %; NEU (2024)
- **Zur Identifikation heterozygoter Träger von angeborenen Störungen der Thrombozyten soll die Molekulargenetik verwendet werden.**  
Konsensstärke: 78 %; NEU (2024)

## Inhaltsverzeichnis

Was gibt es Neues? .....	2
Die wichtigsten Empfehlungen auf einen Blick .....	2
<b>I. Leitlinieninformation .....</b>	<b>8</b>
1. Mitglieder der Leitliniengruppe .....	8
1.1. LeitlinienkoordinatorInnen/Ansprechpartner.....	8
1.2. Weitere beteiligte LeitlinienautorInnen.....	8
2. Beteiligte Fachgesellschaften .....	13
3. Methodische Begleitung.....	14
4. Andere Beteiligte .....	14
5. Leitliniendokumente .....	14
6. Redaktionelle Unabhängigkeit .....	14
6.1. Finanzierung der Leitlinie .....	14
6.2. Umgang mit Interessenskonflikten .....	14
<b>II. Leitlinienverwendung .....</b>	<b>16</b>
1. Geltungsbereich.....	16
1.1. Zielorientierung der Leitlinie .....	16
1.2. Patientenzielgruppe .....	16
1.3. Versorgungsbereich.....	16
1.4. Anwenderzielgruppen/Adressaten .....	16
2. Gültigkeitsdauer und Aktualisierung.....	16
<b>III. Leitlinienmethodik.....</b>	<b>17</b>
1. Grundlagen.....	17
2. Zeitliche Abfolge der Leitlinienerstellung .....	17
3. Übersicht zum methodischen Vorgehen bei der Leitlinien-Aktualisierung.....	19
4. Strukturierte Konsensfindung und Konsensusstärke .....	19
5. Handlungsempfehlungen .....	20
<b>IV. Hinweise .....</b>	<b>20</b>
1. Gender Hinweis.....	20
2. Hinweis zu Markennamen und Produktbezeichnungen .....	20
<b>1. Problemstellung.....</b>	<b>22</b>
<b>2. Patientenperspektive .....</b>	<b>22</b>
<b>3. Einleitung .....</b>	<b>22</b>

<b>4. Diagnosealgorithmus</b>	<b>23</b>
4.1. <i>Klinische Bewertung und Anamnese</i>	24
4.2. <i>Laboruntersuchungen für Thrombozytenfunktionsstörungen</i>	31
<b>5. Präanalytik</b>	<b>35</b>
5.1. <i>PatientIn</i>	35
5.2. <i>Blutgewinnung</i>	35
5.3. <i>Probentransport/-versand</i>	36
5.4. <i>Probenvorbereitung</i>	36
<b>6. Aggregometrie</b>	<b>37</b>
6.1. <i>Lichttransmissionsaggregometrie (LTA)</i>	37
1. <i>Prinzip</i>	38
2. <i>Präanalytik</i>	38
3. <i>Methodik und Anwendbarkeit</i>	39
4. <i>Referenzbereiche, Standardisierung und Qualitätskontrolle</i>	43
6.2. <i>Impedanzaggregometrie (IA) im Vollblut – Whole Blood Aggregometry (WBA)</i>	43
1. <i>Prinzip</i>	44
2. <i>Präanalytik</i>	44
3. <i>Methodik</i>	44
6.3. <i>Luminometrische Bestimmung der ATP-Freisetzung</i>	46
1. <i>Prinzip</i>	46
2. <i>Methodik</i>	46
6.4. <i>Automatisierte Lichttransmissionaggregometrie</i>	47
<b>7. Durchflusszytometrie</b>	<b>49</b>
1. <i>Prinzip</i>	49
2. <i>Präanalytik</i>	49
3. <i>Methodik und Anwendbarkeit</i>	50
4. <i>Auswertung, Beurteilung und Berichterstattung</i>	57
5. <i>Referenzbereiche, Standardisierung, Qualitätskontrolle</i>	58
6. <i>Zukünftige Entwicklungen</i>	58
<b>8. Immunfluoreszenzmikroskopie</b>	<b>59</b>
1. <i>Präanalytik</i>	59
2. <i>Methodik</i>	59
3. <i>Zielstrukturen und Diagnosen</i>	59
<b>9. Spezialisierte Analysen zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik</b>	<b>61</b>
9.1. <i>Thrombozyten-abhängige Thrombingenerierung</i>	61
<b>10. Molekulargenetische Methoden</b>	<b>63</b>

1. Indikation und Anwendbarkeit.....	63
2. Methoden der Gendiagnostik .....	64
3. Präanalytische Anforderungen und Qualitätskontrolle .....	64
4. Rechtliche Rahmenbedingungen.....	65
5. Auswertung, Interpretation und Berichterstattung.....	65
<b>11. Zukünftige Entwicklungen .....</b>	<b>67</b>
<b>Anhang .....</b>	<b>69</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>71</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>74</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>75</b>
<b>Verzeichnis der Handlungsempfehlungen.....</b>	<b>75</b>
<b>Literatur.....</b>	<b>76</b>
<b>Erklärung über Interessenskonflikte.....</b>	<b>83</b>



## I. Leitlinieninformation

### 1. Mitglieder der Leitliniengruppe

#### 1.1. LeitlinienkoordinatorInnen/Ansprechpartner

Die hier genannten KoordinatorInnen haben maßgeblich zu der Leitlinienplanung, -organisation, -anmeldung, -entwicklung, -redaktion, -implementierung, -evaluierung und -publikation beigetragen.

Inhaltliche Fachfragen zu den in der Leitlinie behandelten Themen sind zunächst ausschließlich an sie zu adressieren.

**Tabelle 1: Federführende und koordinierende LeitlinienautorInnen.**

<b>Werner Streif</b>	<b>Ralf Knöfler</b>
Medizinische Universität Innsbruck (MUI), Department für Kinder- und Jugendheilkunde; Anichstr. 35; A-6020; Innsbruck	Universitätsklinikum Dresden Klinik/Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Bereiche Hämatologie, Onkologie und Hämostaseologie; Fetscherstr. 74; 01307; Dresden
werner.streif@i-med.ac.at	ralf.knoefler@ukdd.de
<b>Jennifer Gebetsberger</b>	
Medizinische Universität Innsbruck (MUI), Department für Kinder- und Jugendheilkunde; Anichstr. 35; A-6020; Innsbruck	
jennifer.gebetsberger@i-med.ac.at	

#### 1.2. Weitere beteiligte LeitlinienautorInnen

In den nachstehenden Tabellen werden die LeitlinienautorInnen der Fassung von 2018 (Tabelle 2) und der hier präsentierten Aktualisierung 2024 (Tabelle 3) gelistet.

**Tabelle 2: LeitlinienautorInnen der Version 2018.**

<b>AutorIn</b>	<b>Institut und Ort</b>	<b>Fachgesellschaft (*MandatsträgerIn)</b>
<b>Althaus, Karina</b>	Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin; Otfried-Müller-Straße 4/1; 72076; Tübingen	DGTI*
<b>Andres, Oliver</b>	Universitätsklinikum Würzburg, Kinderklinik und Poliklinik; Josef-Schneider-Straße 2; 97080; Würzburg	GTH

<b>Bakchoul, Tamam</b>	Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin Tübingen gGmbH (ZKT); Tübingen; Otfried-Müller-Straße 4/1; 72076; Tübingen	DGTI*
<b>Ballmaier, Matthias</b>	Medizinische Hochschule Hannover; Carl- Neuberg-Str.1; 30625; Hannover	
<b>Bergmann, Frauke</b>	Amedes MVZ wagnerstibbe für Laboratoriumsmedizin; Georgstr. 50; 30159; Hannover	DGHO, DGKJ, GTH
<b>Beutel, Karin</b>	Kinderklinik München-Schwabing; Kölner Platz 1; 80804; München	
<b>Bugert, Peter</b>	Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie; Medizinische Fakultät Mannheim; Friedrich-Ebert-Str. 107; 68167; Mannheim	DGTI*
<b>Cario, Holger</b>	Klinik für Kinder- und Jugendmedizin; Universitätsklinikum Ulm; Eythstr. 24; 89075; Ulm	GPOH*
<b>Dame, Christof</b>	Klinik für Neonatologie, Charité Berlin; Augustenburger Platz 1; 13353; Berlin	GNPI*
<b>Eberl, Wolfgang</b>	Klinikum Braunschweig Kinderklinik; Holwedestr.16; 38118; Braunschweig	DGKJ, GPOH, GTH
<b>Felbor, Ute</b>	Universitätsmedizin Greifswald; Institut für Humangenetik; Fleischmannstr. 43; 17475; Greifswald	GfH*
<b>Gebhart, Johanna</b>	Klinik für Innere Medizin I; Abteilung für Hämatologie und Hämostaseologie; Medizinische Universität Wien; Währinger Gürtel 18-20; A- 1090; Wien	ÖGIM*
<b>Halimeh, Susan</b>	Gerinnungszentrum Rhein-Ruhr; Königstr. 13; 47051; Duisburg	GTH
<b>Holzhauser, Susanne</b>	Charité Berlin, Pädiatrische Hämatologie/Onkologie; Augustenburger Platz 1; 13353; Berlin	GPOH*
<b>Jurk, Kerstin</b>	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg- Universität Mainz; Langenbeckstr. 1; 55131; Mainz	GTH
<b>Kehrel, Beate</b>	Universitätsklinikum Münster; Exp. und Klin. Hämostaseologie; Mendelstr. 11; 48149 Münster	DGHO*
<b>Klopocki, Eva</b>	Institut für Humangenetik; Julius-Maximilians- Universität Würzburg; Am Hubland; 97074; Würzburg	GfH*
<b>Knöfler, Ralf</b>	Klinik u. Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin; Med. Fakultät der TU Dresden; Bereich Hämostaseologie; Fetscherstr. 74; 01307; Dresden	DGKJ*, GTH*
<b>Krause, Manuela</b>	DKD Heliosklinik Wiesbaden Hämostaseologie; Aukammallee 33; 65191; Wiesbaden	DGKL, GTH
<b>Krause, Michael</b>	MVZ Labor Leipzig; Strümpellstr. 40; 04289; Leipzig	DGTI, GTH

<b>Manjukan, Georgi</b>	Universitätsklinikum Würzburg; Josef-Schnieder-Str. 2; 97080; Würzburg	
<b>Meyer, Oliver</b>	Charité Berlin; Zentrum für Transfusionsmedizin und Zelltherapie; Hindenburgdamm 30; 12203; Berlin	DGTI
<b>Najm, Juliane</b>	Institut für Humangenetik, Universitätsmedizin Greifswald; Fleischmannstr. 43; 17475; Greifswald	GfH*
<b>Olivieri, Martin</b>	Dr. von Haunersches Kinderspital, Zentrum für Hämostaseologie; Lindwurmstr. 4; 80337; München	GTH
<b>Prüller, Florian</b>	Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik; Auenbruggerplatz 15; 8036; Graz	ÖGLMKC
<b>Rott, Hannelore</b>	Gerinnungszentrum Rhein-Ruhr; Königstr. 53; 47051; Duisburg	GTH
<b>Schmugge, Markus</b>	Leitung Hämatologie; Universitäts Kinderspital Zürich; Steinwiesstr. 75; CH-8032; Zürich	
<b>Schulze, Harald</b>	Universitätsklinikum Würzburg; Institut für Exp. Biomedizin; Josef-Schneider-Straße 2 - Haus D15; 97080; Würzburg	GTH*
<b>Siegemund, Annelie</b>	Department für Innere Medizin, Neurologie und Dermatologie; Universitätsklinikum Leipzig; Liebigstraße 20; 04103; Leipzig	
<b>Stockklausner, Clemens</b>	Klinikum Garmisch-Partenkirchen; Kinder- & Jugendmedizin; Auenstr. 6; 82467; Garmisch-Partenkirchen	DGKJ, GNPI, GPOH
<b>Strauß, Gabriele</b>	Helios Klinikum Berlin-Buch; Kinder- und Jugendmedizin; Schwanebecker Chaussee 50; 13125; Berlin	GPOH, GTH
<b>Streif, Werner</b>	Dept. Für Kinder- und Jugendheilkunde; Medizinische Universität Innsbruck; Anichstr. 35; 6020; Innsbruck	GTH*, ÖGKJ*
<b>Tiebel, Oliver</b>	Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin; Universitätsklinikum Carl Gustav Carus; Fetscherstr. 74; 01307; Dresden	DGKL*
<b>Wermes, Cornelia</b>	Werlhofinstitut, Schillerstrasse 23; 30159; Hannover	GTH
<b>Wiegering, Verena</b>	Universitäts-Kinderklinik Würzburg; Josef-Schneider-Str. 2; 97080; Würzburg	
<b>Wieland, Ivonne</b>	Medizinische Hochschule Hannover; Carl-Neuberg-Str. 1; 30625; Hannover	DGKJ, GTH
<b>Zieger, Barbara</b>	Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin; Albert-Ludwigs-Universität; Hugstetter Straße 55; 79106; Freiburg	GTH*

**Tabelle 3: Leitlinienautoren der Aktualisierung 2024.** Die mit einem Stern (\*) gekennzeichneten Personen sind Mandatstragende beteiligter Fachgesellschaften (nähere Infos in Kapitel 2 Beteiligte Fachgesellschaften).

AutorIn	Institut und Ort	Fachgesellschaft (*MandatsträgerIn)
<b>Alberio, Lorenzo</b>	Service et Laboratoire central d'hématologie; Rue du Bugnon 46 ; CH-1011 ; Lausanne	GTH, SHN*
<b>Althaus, Karina</b>	Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin; Otfried-Müller-Straße 4/1; 72076; Tübingen	DGTI
<b>Andres, Oliver</b>	Universitätsklinikum Würzburg, Kinderklinik und Poliklinik; Josef-Schneider-Straße 2; 97080; Würzburg	DGKJ, GNPI, GPOH, GTH
<b>Bakchoul, Tamam</b>	Zentrum für Klinische Transfusionsmedizin; Otfried-Müller-Straße 4/1; 72076; Tübingen	DGTI*, GTH
<b>Ballmaier, Matthias</b>	Medizinische Hochschule Hannover; Carl- Neuberg-Str.1; 30625; Hannover	GTH
<b>Bergmann, Frauke</b>	Amedes MVZ wagnerstibbe für Laboratoriumsmedizin; Georgstr. 50; 30159; Hannover	GTH
<b>Beutel, Karin</b>	Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, eine Kooperation der München Klinik und des Klinikums Rechts der Isar TUM; Kölner Platz 1; 80804; München	DGKJ, GPOH, GTH
<b>Birschmann, Ingvild</b>	Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein- Westfalen; Universitätsklinik der Ruhr- Universität Bochum; Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin; Georgstr. 11; 32545; Bad Oeynhausen	DGKL *, DGTI, GTH,
<b>Böckelmann, Doris</b>	Universitätsklinikum Freiburg Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin; Mathildenstraße 1; 79106; Freiburg	GTH
<b>Cario, Holger</b>	Klinik für Kinder- und Jugendmedizin; Universitätsklinikum Ulm; Eythstr. 24; 89075; Ulm	GPOH*
<b>Dame, Christof</b>	Klinik für Neonatologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin; Augustenburger Platz 1; 13353; Berlin	GNPI*
<b>Eberl, Wolfgang</b>	Klinikum Braunschweig; Salzdahlumer Strasse 90; 38126; Braunschweig	DGKJ, GPOH, GTH
<b>Gebetsberger, Jennifer</b>	Medizinische Universität Innsbruck (MUI), Department für Kinder- und Jugendheilkunde; Anichstr. 35; A-6020; Innsbruck	GTH
<b>Gebhart, Johanna</b>	Klinik für Innere Medizin I; Abteilung für Hämatologie und Hämostaseologie; Medizinische Universität Wien; Währinger Gürtel 18-20; A-1090; Wien	GTH, ÖGIM*

<b>Holzhauser, Susanne</b>	Charité Berlin, Pädiatrische Hämatologie/Onkologie; Augustenburger Platz 1; 13353; Berlin	GPOH*, GTH
<b>Hütker, Sebastian</b>	Dr. Hütker, Praxis für Kinder- und Jugendmedizin; Goetheplatz 2; 88214; Ravensburg	DGKJ, GTH, GPOH
<b>Jurk, Kerstin</b>	Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz; Langenbeckstr. 1; 55131; Mainz	GTH
<b>Kehrel, Beate</b>	Werlhof Institut MVZ GmbH; Schillerstr. 23; 30159; Hannover	GTH, DGHO*
<b>Knöfler, Ralf</b>	Universitätsklinikum Dresden Klinik/Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Bereiche Hämatologie, Onkologie und Hämostaseologie; Fetscherstr. 74; 01307; Dresden	DGKJ, GPOH, GTH
<b>Krammer-Steiner, Beate</b>	Klinikum Südstadt Rostock; Senat der Hansestadt Rostock; Südring 81; 18059; Rostock	DGHO*, GTH
<b>Krause, Manuela</b>	DKD Heliosklinik Wiesbaden Hämostaseologie; Aukammallee 33; 65191; Wiesbaden	DGIM, GTH
<b>Krause, Michael</b>	Zentrum für Blutgerinnungsstörungen Leipzig; Strümpellstr. 42; 04289; Leipzig	DGTI, GTH
<b>Meyer, Oliver</b>	Blutspendedienst der Landesverbände des DRK in Niedersachsen, Sachsen-Anhalt, Thüringen, Oldenburg und Bremen gGmbH; Eldagsener Str. 38; 31832; Springe	DGHO*, DGTI
<b>Mott, Kristina</b>	Universitätsklinikum Würzburg; Josef-Schneider-Str. 2 Haus D15; 97080; Würzburg	
<b>Olivieri, Martin</b>	Dr. von Haunersches Kinderspital; Zentrum für Hämostaseologie; Lindwurmstr. 4; 80337; München	DGKJ, GTH
<b>Pavlova, Anna</b>	Institut für Experimentelle Hämatologie und Transfusionsmedizin; Venusberg-Campus 1; 53127; Bonn	
<b>Prüller, Florian</b>	Klinisches Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik; Auenbruggerplatz 15; 8036; Graz	ÖGLMKC*
<b>Schulze, Harald</b>	Universitätsklinikum Würzburg; Josef-Schneider-Str, 2 Haus D15; 97080 Würzburg	GPOH, GTH
<b>Siegemund, Annelie</b>	MVZ Limbach Magdeburg; Halberstädter Str. 49; 39112; Magdeburg	
<b>Strauß, Gabriele</b>	Helios Klinikum Berlin-Buch; Kinder- & Jugendheilkunde; Schwanebecker Chaussee 50; 13125; Berlin	DGKJ*, GPOH, GTH
<b>Streif, Werner</b>	Medizinische Universität Innsbruck (MUI), Department für Kinder- und Jugendheilkunde; Anichstr. 35; A-6020; Innsbruck	GTH, ÖGKJ*

<b>Tiebel, Oliver</b>	Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin; Universitätsklinikum Carl Gustav Carus; Fetscherstr. 74; 01307; Dresden	DGKL*
<b>Wiegering, Verena</b>	Universitäts-Kinderklinik Würzburg; Josef-Schneider-Str. 2; 97080; Würzburg	DGKJ, GPOH, GTH
<b>Wieland, Ivonne</b>	Päd. Hämatologie und Onkologie; Medizinische Hochschule Hannover; Carl-Neuberg-Str.1; 30625; Hannover	DGKJ*, GPOH, GTH
<b>Zaninetti, Carlo</b>	Universitätsmedizin Greifswald – KdöR-; Institut für Transfusionsmedizin; Sauerbruchstrasse; 17475; Greifswald	DGTI, GTH
<b>Zieger, Barbara</b>	Universitätsklinikum Freiburg Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin; Mathildenstraße 1; 79106; Freiburg	DGKJ, GTH

## 2. Beteiligte Fachgesellschaften

Die federführende Fachgesellschaft der vorliegenden Leitlinie ist die Ständige Kommission Pädiatrie der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostasenforschung (GTH e.V.).

Zur Teilnahme eingeladen wurden folgende Fachgesellschaften, von denen Vertreterinnen und Vertreter entsandt wurden.

- Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische Onkologie (DGHO)
- Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL)
- Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie (DGTI)
- Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ)
- Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin (GNPI)
- Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH)
- Österreichische Gesellschaft für Innere Medizin (ÖGIM)
- Österreichische Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde (ÖGKJ)
- Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und Klinische Chemie (ÖGLMKC)
- Schweizerisches Hämophilie Netzwerk (SHN)

Den Vertreterinnen aller Fachgesellschaften wurde die Leitlinie zur Beurteilung und Verabschiedung vorgelegt.

### 3. Methodische Begleitung

Die Methodische Begleitung erfolgte durch Frau Simone Witzel seitens der Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF).

### 4. Andere Beteiligte

Die Selbsthilfegruppen Deutsche Hämophilie Gesellschaft (DHG e.V.) und die Österreichische Hämophilie Gesellschaft (ÖHG) wurden involviert. Die positiven Stellungnahmen der Selbsthilfegruppen liegen vor und Vertreter dieser Gruppen wurden zu den Konsensuskonferenzen eingeladen und nahmen an den Diskussionen teil. Zu den beteiligten Vertretern gehörten:

- Günter Auerswald von der Deutschen Hämophilie Gesellschaft (DHG e.V.)
- Thomas Schindl von der Österreichischen Hämophilie Gesellschaft (ÖHG)

Die aktualisierte Leitlinie wurde ihnen vorgelegt und formal verabschiedet.

### 5. Leitliniendokumente

Dieses Leitliniendokument wird als Langversion bezeichnet. Um den Umgang mit dem Leitlinieninhalt für nicht medizinische Interessengruppen (PatientInnen, Laien) oder spezielle Situationen (Praxisalltag, Vorträge) zu erleichtern, liegt auch eine Kurzversion vor.

### 6. Redaktionelle Unabhängigkeit

#### 6.1. Finanzierung der Leitlinie

Die Arbeit an dieser Leitlinie erfolgte ehrenamtlich. Kosten für die methodische Begleitung durch die AWMF wurden von der GTH übernommen. Es erfolgte keine Finanzierung von Seiten der pharmazeutischen Industrie.

#### 6.2. Umgang mit Interessenskonflikten

Nach den Vorgaben des AWMF-Regelwerks (Version 2.1) ist für die Erstellung dieser Leitlinie für jede inhaltlich beteiligte Person eine Interessenserklärung (AWMF-Formular zur Erklärung von Interessenkonflikten im Rahmen von Leitlinienvorhaben; Stand 23.05.2018) nötig. Die Angaben zu den Interessen wurden mit dem AWMF-Formblatt von 2018 erhoben, von allen LeitlinienautorInnen vollständig ausgefüllt und unterschrieben, und von den LeitlinienkoordinatorInnen hinsichtlich eines

thematischen Bezugs zur Leitlinie überprüft. Zudem haben die drei LeitlinienkoordinatorInnen sich gegenseitig bewertet. Ein geringer Interessenskonflikt führte zu einer Limitierung von Leitungsfunktionen (Tabelle 4). Ein moderater Interessenskonflikt hatte eine Stimmenthaltung zur Konsequenz. Ein hoher Interessenskonflikt führte zum Ausschluss von der Beratung und Abstimmung zum betreffenden Thema.

Vor der Konsenskonferenz wurden mögliche Interessenskonflikte mit den betroffenen AutorInnen besprochen und offen dargelegt. Bei Lorenzo Alberio und Ingvild Birschmann wurde ein geringer Interessenskonflikt aufgrund bezahlter Vortrags- und Schulungstätigkeiten festgestellt. In solchen Fällen erfolgt eine Limitierung von Leitungsfunktionen (Koordination/AG-Leitung). Beide hatten jedoch keine Leitungsfunktion in der Leitlinie. Tamam Backhoul besitzt Eigentumsinteressen für die HIT-Diagnostik (Durchflusszytometrie). Obwohl die Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) nicht direkt eine Thrombozytopathie ist, wurde dies protektiv als moderater Interessenskonflikt gewertet. Dies führte zu einem Stimmentzug bei den Handlungsempfehlungen im Kapitel „Durchflusszytometrie“.

**Tabelle 4: Interessenskonfliktmanagement Konkretisierung laut AWMF Kommission Leitlinien.**

<i>Ausprägung Interessenskonflikt</i>	<i>Umstände für diese Kategorie</i>	<i>Konsequenz</i>
<i>Kein</i>	-	-
<i>Gering</i>	Einzelne Vorträge finanziert von der Industrie	Limitierung von Leitungsfunktion (Koordination/AG Leitung)
<i>Moderat</i>	Tätigkeit in einem industriefinanzierten Advisory Board/ Wiss. Beirat/ als Gutachter; Managementverantwortung industriefinanzierte Studie; Aktienbesitz einzelner Firmen	Keine Abstimmung für die thematisch relevanten Empfehlungen
<i>Hoch</i>	Eigentumsinteresse; Arbeitsverhältnis bei der Industrie; hoher Aktienbesitz einzelner Firmen	Keine Teilnahme an Beratungen und keine Abstimmungen

Die vollständigen Interessenserklärungen wurden bei der Leitlinienkoordinatorin Jennifer Gebetsberger archiviert. Eine tabellarische Zusammenfassung der Interessenskonflikte und deren Konsequenzen aller LeitlinienautorInnen befindet sich im Anhang der Leitlinie.



## **II. Leitlinienverwendung**

### **1. Geltungsbereich**

#### **1.1. Zielorientierung der Leitlinie**

Hilfestellung zur Diagnose angeborener Erkrankungen der Thrombozyten bei Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen. Insbesondere die Entscheidungskriterien zu Auswahl und Einsatz geeigneter diagnostischer Maßnahmen in Abhängigkeit von der klinischen Präsentation und Ursache der Thrombozytenfunktionsstörung, assoziierten Thrombozytopenie, Alter und Geschlecht sind Gegenstand des Konsensus.

#### **1.2. Patientenzielgruppe**

PatientInnen mit Blutungsneigung bei Verdacht auf oder bestätigten angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten.

#### **1.3. Versorgungsbereich**

Es werden alle Versorgungsbereiche der betriebsärztlichen, ambulanten und stationären Versorgung (Klinik, Praxis) der o.g. Patientenzielgruppen angesprochen.

#### **1.4. Anwenderzielgruppen/Adressaten**

Die Leitlinie richtet sich an ÄrztInnen, die in die Abklärung und Versorgung von PatientInnen mit Blutungsneigung bei Verdacht auf oder bestätigten angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten involviert sind.

### **2. Gültigkeitsdauer und Aktualisierung**

#### **Datum der letzten inhaltlichen Überarbeitung und Status**

Die Leitlinie wurde 2012 erstellt und 02/2018 aktualisiert. Diese S2k Leitlinie war bis 02/2023 gültig. Die Anmeldung für die weitere Aktualisierung erfolgte am 27.02.2023. Die letzte inhaltliche Überarbeitung erfolgte am 15.07.2024. Die Gültigkeit der aktualisierten Leitlinie beträgt maximal 5 Jahre (15.07.2029). Kommentare und Hinweise für den Aktualisierungsprozess sind ausdrücklich erwünscht und können an die LeitlinienkoordinatorInnen gesendet werden.

#### **Aktualisierungsverfahren**

Eine Überprüfung des Aktualisierungsbedarfs erfolgt kontinuierlich. Gegebenenfalls wird von der Leitliniengruppe ein Aktualisierungsverfahren vorzeitig eingeleitet. Bei weiterhin aktuellem

Wissenstand kann ebenso die Gültigkeitsdauer auf maximal 5 Jahre verlängert werden. Verantwortlich für die Aktualisierung der Leitlinie ist Werner Streif (werner.streif@i-med.ac.at).

### **III. Leitlinienmethodik**

#### **1. Grundlagen**

Die Methodik zur Erstellung dieser Leitlinie wird durch die Vergabe der Stufenklassifikation vorgegeben. Das AWMF-Regelwerk (Version 2.1 vom 05.09.2023) gibt entsprechende Regelungen vor. Es wird zwischen der niedrigsten Stufe (S1), der mittleren Stufe (S2) und der höchsten Stufe (S3) unterschieden. Die niedrigste Stufe definiert sich durch eine Zusammenstellung von Handlungsempfehlungen, welche durch eine nicht-repräsentative ExpertInnengruppe erstellt wird. Seit 2004 wird die Stufe S2 in die systematische evidenzbasierte (S2e) und die strukturelle konsensbasierte Unterstufe (S2k) untergliedert. In der höchsten Stufe S3 vereinigen sich beide Verfahren.

**Diese Leitlinie entspricht der Stufe: S2k**

Quelle: Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. (AWMF)-Ständige Kommission Leitlinien. AWMF-Regelwerk „Leitlinie“. Version 2.1 vom 05.09.2023:

<https://www.awmf.org/leitlinien/awmf-regelwerk.html>

#### **2. Zeitliche Abfolge der Leitlinienerstellung**

Die vorangegangene Leitlinienversion wurde am 28. Februar 2018 angemeldet und war bis 27. Februar 2023 gültig. Die Aktualisierung wurde bei der AWMF am 27. Februar 2023 angemeldet. Im Zuge der Aktualisierung wurden insgesamt drei Leitliniengruppentreffen und eine zweiteilige Konsensuskonferenz durchgeführt. Die Leitliniengruppentreffen fanden zu folgenden Zeitpunkten statt: 11. September 2022 in Igls bei Innsbruck, 19. bis 20. November 2023 in Hannover, und 27. Februar 2024 in Wien. Bei diesen Treffen wurden die Kapitelüberarbeitungen besprochen und diskutiert. Das formale Konsensusfindungsverfahren fand am 23. April 2024 und am 28. Mai 2024 online via Webex statt. Hier wurden Empfehlungen unter neutraler Moderation von Frau Simone Witzel (AWMF) diskutiert und verabschiedet (Kapitel 4 „Strukturierte Konsensfindung und Konsensusstärke“).

Abschließend wurde allen Mitgliedern die Leitlinie und die Aktualisierung in ihrer finalen Form zur Beurteilung und Verabschiedung vorgelegt. Im Anschluss wurde die vollständige Leitlinie von den Vorständen aller beteiligten Fachgesellschaften begutachtet und verabschiedet. Durch die AWMF erfolgte eine externe formale Beurteilung.

**Tabelle 5: TeilnehmerInnen der drei Leitliniengruppentreffen und der beiden Konsensuskonferenzen, die im Rahmen der Leitlinienaktualisierung stattgefunden haben.**

Name	Igls, 11.09.2022	Hannover, 19./20.11.2023	Wien, 27.02.2024	Online, 23.04.2024	Online, 28.05.2024
Alberio, Lorenzo				✓	✓
Althaus, Karina		✓	✓	✓	✓
Andres, Oliver	✓	✓		✓	
Auerswald, Günter				✓	
Bakchoul, Tamam		✓	✓		✓
Ballmaier, Matthias	✓	✓		✓	✓
Bergmann, Frauke		✓	✓	✓	✓
Beutel, Karin				✓	✓
Birschmann, Ingvild		✓		✓	
Böckelmann, Doris			✓	✓	✓
Cario, Holger			✓		
Dame, Christof	✓	✓		✓	✓
Eberl, Wolfgang	✓				
Gebetsberger, Jennifer	✓		✓	✓	✓
Gebhart, Johanna			✓	✓	✓
Holzhauser, Susanne	✓	✓	✓	✓	✓
Hütker, Sebastian			✓	✓	✓
Jurk, Kerstin	✓	✓	✓	✓	
Kehrel, Beate		✓	✓	✓	✓
Knöfler, Ralf	✓	✓	✓	✓	✓
Krammer-Steiner, Beate				✓	
Krause, Manuela		✓	✓	✓	✓
Krause, Michael			✓	✓	
Meyer, Oliver		✓		✓	✓
Mott, Kristina		✓	✓	✓	✓
Olivieri, Martin	✓			✓	
Pavlova, Anna					
Prüller, Florian	✓	✓	✓	✓	✓
Schulze, Harald		✓		✓	✓
Siegemund, Annelie			✓		
Strauß, Gabriele	✓	✓			✓
Streif, Werner	✓	✓	✓	✓	✓
Tiebel, Oliver				✓	✓
Wiegering, Verena				✓	✓

Wieland, Ivonne	✓	✓	✓		✓
Witzel, Simone				✓	✓
Zaninetti, Carlo			✓		✓
Zieger, Barbara	✓	✓	✓	✓	✓

### 3. Übersicht zum methodischen Vorgehen bei der Leitlinien-Aktualisierung

- Formulierung von Schlüsselfragen
- Verwendung existierender Leitlinien zum Thema
- Literaturrecherche
- Auswahl geeigneter Literatur
- Überarbeitung bzw. Aktualisierung der Leitlinie
- Formulierung der Empfehlungen
- Strukturierte Konsensfindung: Verfahren und Durchführung

### 4. Strukturierte Konsensfindung und Konsensusstärke

Im Rahmen einer strukturierten Konsensusfindung stimmten die berechtigten TeilnehmerInnen der Konsensuskonferenz im NIH-Typ über die ausformulierten Empfehlungen und Statements ab. Die Empfehlungen wurden unter neutraler Moderation wie folgt abgestimmt:

- Präsentation der abzustimmenden Empfehlungen im Plenum durch LeitlinienkoordinatorInnen.
- Gelegenheit zu Rückfragen und Einbringung von begründeten Änderungsvorschlägen.
- Abstimmung ggf. der Empfehlungen des Erstentwurfs oder der Änderungsvorschläge.
- Bei Bedarf: Diskussion, Erarbeitung von Alternativvorschlägen und endgültige Abstimmung.
- Endgültige Abstimmung.

Abschließend wurde abhängig von der Anzahl der Stimmberechtigten eine Stärke des Konsens (Tabelle 6) ermittelt.

**Tabelle 6: Feststellung der Konsensstärke.**

Klassifikation der Konsensstärke	Prozentuale Übereinstimmung
Starker Konsens	> 95 % der Stimmberechtigten
Konsens	> 75-95 % der Stimmberechtigten
Mehrheitliche Zustimmung	> 50-75 % der Stimmberechtigten

---

Keine mehrheitliche Zustimmung

< 50 % der Stimmberechtigten

---

## 5. Handlungsempfehlungen

Zur Vereinfachung und besseren Übersicht wurden Handlungsempfehlungen abgeleitet, welche sich in drei Abstufungen mit jeweils unterschiedlichen Stärken der sprachlichen Ausdrucksweise unterscheiden (Tabelle 7).

**Tabelle 7: Dreistufiges Schema zur Graduierung von Handlungsempfehlungen.**

Symbolik	Empfehlungsstärke	Ausdruck
↑↑ / ↓↓	Starke Empfehlung	Soll / Soll nicht
↑ / ↓	Einfache Empfehlung	Sollte / Sollte nicht
↔	Offene Empfehlung	Kann erwogen/ verzichtet werden

## IV. Hinweise

### 1. Gender Hinweis

In dieser Leitlinie bemühen wir uns um eine geschlechterinklusive Sprache, indem wir Formen wie „PatientInnen“ und „AutorInnen“ verwenden, um alle Geschlechter einzuschließen. Dies soll die Vielfalt und Gleichwertigkeit aller Geschlechter betonen und eine inklusive Ansprache gewährleisten. Dennoch kann aus Gründen der Lesbarkeit in einigen Fällen auf die Nennung jeder Geschlechtsform verzichtet werden. Wo dies der Fall ist, sollen alle Personenbezeichnungen als geschlechtsneutral verstanden werden und implizieren keinerlei Benachteiligung eines Geschlechts. Wir erkennen die Bedeutung einer inklusiven Sprache an und sind bestrebt, alle Menschen gleichermaßen anzusprechen.

### 2. Hinweis zu Markennamen und Produktbezeichnungen

Wir wollen darauf hinweisen, dass aus rechtlichen Gründen in den Empfehlungen dieser Leitlinie vorrangig die Wirkstoffe bzw. übergeordnete Produktbezeichnungen genannt werden. In bestimmten

Fällen, in denen eine eindeutige Identifizierung ohne Nennung von Produkt- bzw. Markennamen nicht möglich ist, sehen wir uns jedoch gezwungen, diese zu erwähnen. Dies geschieht ausschließlich zu Zwecken der Klarheit und Genauigkeit und stellt keine Produktempfehlung oder Werbung dar.

## 1. Problemstellung

Angeborene Störungen der Thrombozytenfunktion (inherited platelet defects, IPD) stellen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen dar, die mit komplexen systemischen Erkrankungen assoziiert sind oder isoliert als Ursache einer hämorrhagischen Diathese auftreten. Die Erkrankungen sind häufig schwierig zu diagnostizieren und es gelingt oftmals nicht, sie einem klassifizierten Krankheitsbild zuzuordnen. Angeborene Störungen der Thrombozyten, insbesondere ohne Erniedrigung der Thrombozytenzahl auf unter 100.000/ $\mu$ l, bleiben häufig bis zum Eintritt von Blutungssymptomen unentdeckt [1]. Klinische Folge einer Störung der Thrombozyten ist in den meisten Fällen eine leichte bis moderate Blutungsneigung. Durch Kofaktoren, wie Medikamente, Operationen oder andere Herausforderungen der Hämostase kann es zu einer klinisch relevanten Blutungsneigung kommen. Typische Symptome von Störungen der Thrombozyten sind Schleimhautblutungen, Epistaxis, Menorrhagien, Hämatome, Petechien und Blutungen bei invasiven Eingriffen und Operationen. Blutungen können auch plötzlich und unvorhergesehen auftreten.

Zur Beurteilung der Thrombozyten empfiehlt sich die Verwendung eines diagnostischen Algorithmus. Obwohl eine Vielzahl von Mess- und Testmethoden zur Verfügung steht, eignen sich nur einige wenige für die klinische Praxis. Die Auswahl der Labordiagnostik hängt ganz wesentlich von der Vorgeschichte, klinischen Präsentation und den lokalen Gegebenheiten ab. Eine Diagnosestellung gelingt häufig nur in enger Zusammenarbeit mit spezialisierten hämostaseologischen Zentren und molekulargenetischen Laboren.

## 2. Patientenperspektive

Bei der Erstellung und Aktualisierung dieser Leitlinie wurde großer Wert auf die Einbeziehung der Patientenperspektive gelegt, um sicherzustellen, dass die Leitlinie nicht nur wissenschaftlich fundiert, sondern auch praxisnah und patientenorientiert ist. Die Leitlinie verfolgt folgende patientenorientierte Ziele:

1. Die Diagnostik von Störungen der Thrombozyten soll möglichst wohnortnah unterstützt werden.
2. Die Diagnostik soll nur so viele Schritte wie unbedingt notwendig umfassen.
3. Die Beratung von Betroffenen und deren Familien soll unterstützt werden.
4. Der Patient soll von der Diagnosestellung profitieren.

## 3. Einleitung

Die vorliegende Leitlinie soll die Diagnose von angeborenen Störungen der Thrombozyten unterstützen. Die diagnostischen Schritte sind individuell anzupassen, abhängig von Familien- und

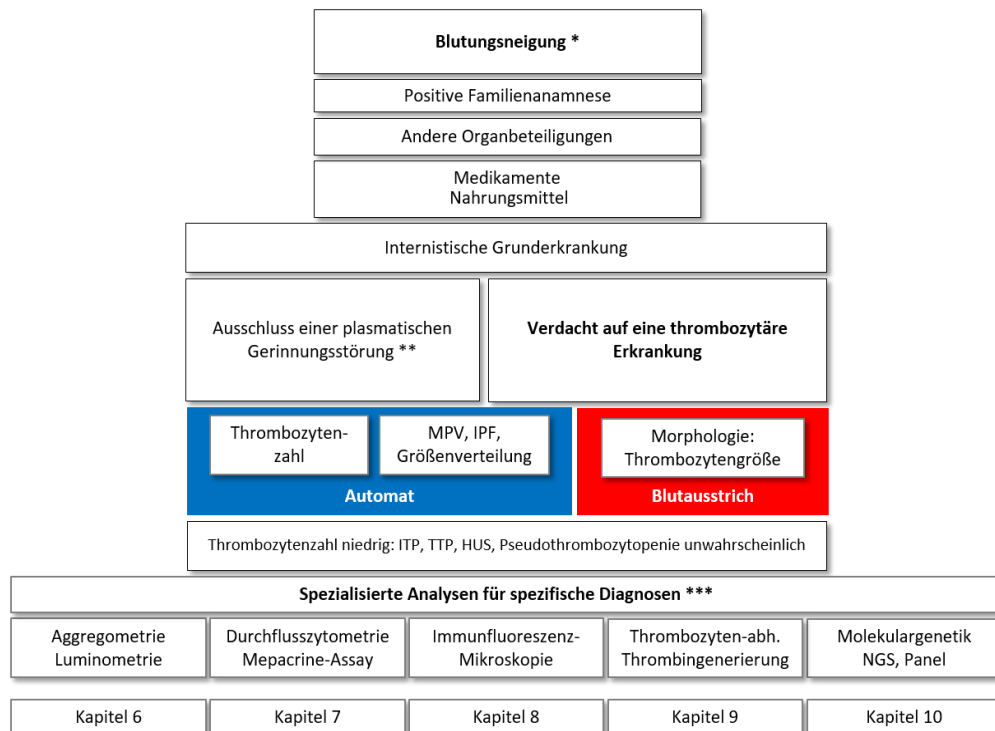
Individualanamnese, vorliegender Grunderkrankung (z.B. einem Symptomenkomplex: Syndrom), Thrombozytenzahl und -morphologie und verfügbaren Laboruntersuchungen.

Für die häufigsten und gut charakterisierten angeborenen Störungen der Thrombozyten werden weiterreichende Informationen gegeben. Die wichtigsten Untersuchungsmethoden sind im Detail beschrieben. Der zunehmenden Bedeutung der Molekularbiologie in der klinischen Praxis zur Diagnose angeborener Störungen der Thrombozyten ist ein Kapitel gewidmet. Die Leitlinie wurde gegenüber den Vorversionen um die Kapitel *Präanalytik*, *Thrombozyten-abhängige Thrombinbildung* und *zukünftige Entwicklungen* erweitert. Die AutorInnen sehen darin einen wesentlichen Beitrag zur Erleichterung der Diagnosestellung.

Die Leitlinie ist nicht geeignet zur Beurteilung von für PatientInnen, die Thrombozyten-aktive Substanzen erhalten oder an erworbenen Störungen der Thrombozytenfunktion oder/ und Thrombozytenzahl leiden.

#### 4. Diagnosealgorithmus

Für die Diagnosestellung hat sich die Verwendung eines Algorithmus bewährt (Abbildung 1).



\* Verwendung eines standardisierten Blutungsfragebogen (ISTH BAT u.a.) wird empfohlen.

\*\* Insbesondere auszuschließen sind: von Willebrand Erkrankung, Einzelfaktormangel (Hämophilie A/B u.a.), Hyperfibrinolyse.

\*\*\* Auswahl der Methoden: individuell; Molekulargenetik ist als alleinige diagnostische Maßnahme nicht empfohlen.

**Abbildung 1: Diagnosealgorithmus zur Unterstützung einer rationalen Herangehensweise bei Blutungsneigung und Verdacht auf eine angeborene Erkrankung der Thrombozyten.** *Abkürzungen:* Mittleres Plättchenvolumen (MPV), Immature Plättchenfraktion (IPF), Immuntrombozytopenie (ITP), Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura (TTP), Hämolytisch urämisches Syndrom (HUS).



#### 4.1. Klinische Bewertung und Anamnese

- **Welche klinischen Merkmale sind charakteristisch für primäre Hämostasestörungen, einschließlich angeborenen Thrombozytenfunktionsstörungen (IPDs)?**

Primäre Hämostasestörungen, zu denen auch Thrombozytenfunktionsstörungen zählen, sind durch eine mukokutane Blutungsneigung gekennzeichnet. Typisch ist die Neigung zu Menorrhagien, Epistaxis, kutanen Hämatomen und Petechien. Angaben zur Familien- und Individualanamnese sind wichtig. Zur standardisierten Beurteilung der Blutungsneigung kann die deutsche Übersetzung des pedISTH-BAT (bei Kindern) oder ISTH-BAT (bei Erwachsenen) verwendet werden [2, 3].

- **Kommen angeborene Störungen der Thrombozyten bei anderen und komplexen („syndromalen“) Erkrankungen vor?**

Etwa die Hälfte aller vererbten Thrombozytopenien, sowie einige vererbte Thrombozytopathien, treten bei komplexen Erkrankungen auf, bei denen der angeborene Thrombozytendefekt mit hoher Wahrscheinlichkeit mit klinisch relevanten Veränderungen in anderen Zelltypen und Organen, oder mit der Entwicklung einer neoplastischen Erkrankung, verbunden ist [4-9]. Diese wurden von der WHO als myeloische Neoplasien mit Keimbahnprädisposition und vorbestehenden Thrombozytenstörungen, einschließlich solcher, die sich mit molekularen Varianten im Ankyrin-Repeat-Domain-26-Gen (ANKRD26) oder in den Transkriptionsfaktoren ETV6 und RUNX1 entwickeln, definiert [10].

Die Variabilität an Symptomen, die im Rahmen dieser komplexen Erkrankungen auftreten können, ist breit und reicht von kardialen und renalen Malformationen, Skelettanomalien, Entwicklungsverzögerung, Hypercholesterinämie, Artherosklerose, usw. bis zur malignen Entartungsprädisposition [9].

- **Welche komplexen („syndromalen“) Erkrankungen verdienen besondere Aufmerksamkeit?**

In folgenden sind wichtige und klassische komplexe Erkrankungen („Syndrome“) aufgeführt, die mit Störungen der Thrombozyten assoziiert sind [9, 11]. Dabei können abhängig vom Subtyp (z.B. beim Hermansky-Pudlak-Syndrom) oder von der Lokalisation der pathogenen Variante im Gen (z.B. im MYH9-Gen) unterschiedliche Symptome mit unterschiedlicher Ausprägung vorliegen.

- **ARC-Syndrom (Arthrogyposis multiplex congenita):** Renale Funktionsstörung und Cholestase
- **Chediak-Higashi-Syndrom:** Immundefekt, okulokutaner Albinismus, neurologische Auffälligkeiten
- **DIAPH1-assoziierte Thrombozytopenie:** Hörverlust, Immundefekt
- **Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose:** Immundefekt
- **GATA1-bedingte Thrombozytopenie (GATA1-RT):** Thalassämieähnliche, dyserythropoetische Anomalien
- **Griscelli-Syndrom:** Albinismus, Immundefekt
- **Hermansky-Pudlak-Syndrom:** Okulokutaner Albinismus, Lungenfibrose, granulomatöse Kolitis, Immundefekt
- **Leukozyten-Adhäsionsdefekt-III:** Immundefekt
- **MYH9-assoziierte Makrothrombozytopenie:** Katarakt, Hörstörung, Nephropathie
- **Paris-Trousseau-Syndrom, Jacobsen-Syndrom:** Je nach Größe der Deletion Entwicklungsverzögerungen, Herzfehlbildung, geistige Retardierung, Veränderungen der Gesichtsmorphologie
- **TAR-Syndrom:** Bilaterale Radiusaplasie, renalen und kardialen Fehlbildungen
- **Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS):** Ekzeme, Kuhmilchallergie, Immundefekt

Verschiedene Datenbanken stehen zur Verfügung, bei denen Angaben zum Phänotyp bei komplexen Erkrankungen abgefragt werden können: OMIM (<https://www.omim.org/>), orphanet (<https://www.orpha.net/de>).

- **Welche diagnostischen Fragebögen (und Scores) sind zur Beurteilung der Blutungsneigung bei Patienten mit Störungen der Thrombozytenfunktion am besten geeignet, und wann sollte ihre Anwendung in der klinischen Praxis erfolgen?**

Derzeit wird eine Vielzahl verschiedener Blutungsfragebögen genutzt, um Blutungshäufigkeit und – schwere systematisch zu erfassen. Der Vorteil dieser Werkzeuge besteht im Wesentlichen darin, in klinischen Studien oder in der klinischen Praxis standardisiert und umfassend Blutungsereignisse zu dokumentieren. Allerdings ist der diagnostische Wert für die Untersuchung von PatientInnen mit Verdacht auf angeborene Gerinnungsstörung für die meisten Fragebögen begrenzt [12]. Der Blutungsscore der Internationalen Gesellschaft für Thrombose und Hämostase, der ISTH-BAT Score, wurde spezifisch für die Diagnose primärer Hämostasestörungen entwickelt und in verschiedenen Patientengruppen evaluiert [3, 13, 14]. Darüber hinaus wurde der Score bereits wiederholt bei

pädiatrischen PatientInnen mit Störungen der primären Hämostase validiert. Bei Kindern ist ein pedISTH-BAT Score > 2, bei Männern ein ISTH-BAT Score > 4, und bei Frauen > 6 als positiv zu bewerten [15]. Der ISTH-BAT hat sich zum Screenen von erwachsenen PatientInnen mit Verdacht auf schwere Thrombozytenfunktionsstörung als sensitiv und zuverlässig gezeigt [16]. Bei pädiatrischen PatientInnen ist der ISTH-BAT nur bedingt geeignet, um Thrombozytenfunktionsstörungen zu diagnostizieren oder auszuschließen. Da Kinder generell keine oder wenige Blutungsgelegenheiten, wie operative Eingriffe oder Verletzungen erlebt haben, nehmen einzelne Blutungsereignisse einen erheblichen Einfluss auf die kumulative Punktzahl. Das führt sowohl zu falsch positiven als auch falsch negativen Befunden und ist damit insbesondere für die Diagnostik milder Störungen der Thrombozyten bedingt oder nicht hilfreich [17].

Bei Mädchen und Frauen mit Menorrhagien kann zusätzlich das Pictoral Blood Assessment Chart (PBAC) herangezogen werden [18]. Der diagnostische Wert für das Vorliegen einer Thrombozytenerkrankung wurde bislang allerdings nicht evaluiert.

- **Welche Medikamentenlisten, Genussmittel und anderes sollen abgefragt werden?**

Thrombozytenfunktionshemmer (derzeitig verfügbar: Tabelle 8; in Phase 3 Zulassungsstudien:

Tabelle 10 im Anhang), aber auch zahlreiche andere Medikamente, Nahrungs- und Genussmittel sowie Nahrungsergänzungstoffe (Tabelle 9) beeinflussen in unterschiedlichem Ausmaß Thrombozyten [19-21].

**Tabelle 8: Auswahl derzeitig verfügbarer Thrombozytenfunktionshemmer (Anti platelet drugs) [21, 22].**

<i>Wirkstoff</i>	<i>Angriffspunkt</i>	<i>Zeit bis zur Erholung der Thrombozytenfunktion nach Absetzen</i>
<b>ACETYLSALICYL-SÄURE (ASS)</b>	Cyclooxygenase-1 plus zusätzl. Effekte wie die Bildung von Lipoxinen	5-7 Tage
<b>CLOPIDOGREL</b>	ADP-Rezeptor P2Y <sub>12</sub>	7-10 Tage
<b>PRASUGREL</b>	ADP Rezeptor P2Y <sub>12</sub>	7-10 Tage
<b>TICAGRELOR</b>	ADP Rezeptor P2Y <sub>12</sub>	3-5 Tage
<b>CANGRELOR</b>	ADP-Rezeptor P2Y <sub>12</sub>	30-60 min

<b>CILOSTAZOL</b>	PDEIII	12-16 h
<b>ILOPROST</b>	PGI <sub>2</sub> Analog	-
<b>EPTIFIBATID</b>	GPIIb/IIIa Antagonist	4-8 h
<b>TIROFIBAN</b>	GPIIb/IIIa Antagonist	4-8 h

**Tabelle 9: Andere Medikamente, Röntgenkontrastmittel und Nahrungsmittel mit möglichem Einfluss auf die Thrombozytenfunktion [20, 23-26].** Diese Tabelle ist nicht vollständig. Steht ein Medikament, Röntgenkontrastmittel oder Nahrungs(ergänzungs)mittel nicht in der Tabelle, so bedeutet dies nicht, dass es die Funktion der Thrombozyten nicht beeinflusst.

<b>Medikamentengruppe</b>	<b>Arznei-, Wirk- bzw. Inhaltsstoff</b>	<b>Potenzieller Wirkungsmechanismus</b>
<b>Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR)</b>		
	Mefenaminsäure	Reversible Inhibierung von Thrombozyten COX-1
	Diclofenac	Reversible Inhibierung von Thrombozyten COX-1
	Ibuprofen, Indometacin, Naproxen	Reversible Inhibierung von Thrombozyten COX-1
	Piroxicam	Verlängerte, aber reversible Inhibierung von Thrombozyten COX-1
	Diflunisal	Reversible Inhibierung von Thrombozyten COX-1
<b>Antipyretikum</b>		
	Metamizol	Hemmung der COX-1 (unklar ob kompetitiv oder allosterisch) sehr variabler Effekt
<b>β- Lactam-Antibiotika</b>		
<b>Penicilline</b>		Interaktion mit Thrombozytenrezeptoren und/oder VWF
	Ampicillin, Carbenicillin, Mezlocillin, Penicillin G, Piperacillin, Ticarcillin	
	Apalcillin, Methicillin, Sulbenicillin	
	Azlocillin	
	Nafcillin	
<b>Cephalosporine</b>		Interaktion mit Komponenten der Thrombozytenmembran
	Cefalotin	
	Cefamandol	
	Cefoperazon	
	Cefotaxim	

	Ceftazidim	
	Cefixim	
	Latamoxef or Moxalactam	
<b>Andere Antibiotika und Antimykotika</b>		
	Nitrofurantoin	Inhibierung von Thrombozyten COX-1 (im Tiermodell)
	Flucytosin	
<b>Medikamente, die cAMP oder cGMP erhöhen</b>		
<b>cAMP Stimulatoren</b>		
	Prostaglandin E <sub>1</sub> (PGE <sub>1</sub> ), Prostaglandin I <sub>2</sub> (PGI <sub>2</sub> ), und Analoga	
<b>Phosphodiesterase (PDE)-Hemmer</b>		
	Cilostazol	Phosphodiesterase-3-Hemmer
	Sildenafil	Phosphodiesterase-5-Hemmer; Aktivierungsdefekt von Integrin $\alpha$ IIb $\beta$ 3
	Theophyllin, Aminophyllin	
<b>Herz-Kreislauf-Medikamente</b>		
<b>Nitrate</b>		
	Nitroprussid, Nitroglycerin, Isosorbiddinitrat	Erhöhung von Stickoxiden und damit Erhöhung von Thrombozyten cAMP und cGMP
<b>Betablocker</b>		
	Propranolol, Nebivolol, Pindolol	
	Metoprolol	
	Atenolol	
<b>Calciumantagonisten</b>		
	Verapamil, Nifedipin, Diltiazem	Inhibierung von Adrenalin an $\alpha$ 2- Adrenorezeptoren; Inhibierung der Thrombozytenaktivierung auf TXA <sub>2</sub> und Serotonin
	Dihydropyridin, Isradipin, Felodipin, Nicardipin	Verminderte Thrombozytenaktivität durch unbekannten Mechanismus
<b>ACE-Hemmer</b>		
	Captopril, Enalapril, Lisinopril, Rampiril	Herunterregulierung von Integrin $\alpha$ IIb $\beta$ 3 vermutet, NO-vermittelter Effekt vermutet
<b>Angiotensin-Rezeptor-Blocker</b>		
	Valsartan, losartan, Olmesartan	Herunterregulierung von Integrin $\alpha$ IIb $\beta$ 3 vermutet, Interferenz mit TXA <sub>2</sub> Rezeptor
<b>Antiarrhythmika</b>		
	Chinidin	Hemmung von $\alpha$ 2-Adrenorezeptoren
<b>Lipidsenker</b>		
<b>HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren (Statine)</b>		

	Atorvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Pitavastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin	Änderung der Lipid-Zusammensetzung der Thrombozytenmembran; Inhibierung der Protein-Prenylierung und damit Inhibierung von GTP-bindenden Proteinen vermutet
<b>Anti-Epileptika</b>		
<b>Antikonvulsiva</b>		
	Gabapentin	Keine Aggregation zu Arachidonsäure und Epinephrin, eine defekte Reaktion auf ADP und eine leicht verringerte Reaktion auf Kollagen
	Valproat	Thrombozytopenie und -pathie
<b>Antikoagulanzen, Fibrinolytika, und Antifibrinolytika</b>		
<b>Heparine</b>		
	Unfraktioniertes Heparin (UFH) und Niedermolekulares Heparin (LMWH)	
<b>Thrombolytika</b>		
	Streptokinase, Urokinase, Gewebespezifischer Plasminogenaktivator (t-PA)	Wahrscheinlich multifaktorieller Mechanismus
<b>Antifibrinolytika</b>		
	E-Aminocapronsäure	
<b>Plasmaexpander</b>		
	Dextrane	Interaktion mit Bestandteilen der Thrombozyten-Membran
	Hydroxyethylstärke	
<b>Antihistaminika</b>		
	Chlorpheniramin, Diphenhydramin, Antazolin	
<b>Röntgenkontrastmittel</b>		
	Iopamidol	
	Amidotrizoesäure, Meglumin-Amidotrizoat, Natrium-Amidotrizoat	
<b>Psychopharmaka</b>		
<b>Trizyklische Antidepressiva</b>		
	Imipramin, Amitriptylin, Nortriptylin, Doxepin	
<b>Tetrazyklische Antidepressiva</b>		
	Mianserin	

<b>Phenothiazine</b>		
	Chlorpromazin, Promethazin, Trifluoperazin	Inhibierung von Calmodulin-abhängigen Signalwegen vermutet
<b>Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRI)</b>		
	Fluoxetin, Paroxetin, Sertralin, Escitalopram, Citalopram, Velafaxin	
<b>Chemotherapeutika</b>		
<b>Antibiotika</b>	Mithramycin	
<b>Anthracycline</b>	Daunorubicin	
<b>Alkylantien</b>	Melphalan	
<b>N-Nitroharnstoff-Derivate</b>	Carmustin	
<b>Estrogenrezeptormodulatoren</b>	Tamoxifen	
<b>Oxazophosphorine</b>	Cyclophosphamid	
<b>Platinderivate</b>	Cisplatin	
<b>Bruton-Tyrosinkinase Inhibitoren</b>	Ibrutinib, Acalabrutinib, Zanubrutinib, Tirabrutinib	Hemmung des Thrombozyten-Signalweges über GPVI und Fc-gamma-RIIa
<b>Anästhetika und Narkotika</b>		
	Benoxinat, Morphin, Benzocain, Butacain, Lidocain, Hydroxychloroquin, Piperocain, Proparacain, Procain, Tetracain	
<b>Andere</b>		
	Clofibrat, Etofibrat	Änderung von Agonistenrezeptoren vermutet
	Stickstoffmonoxid (NO)	Stimulation der löslichen Guanylatzyklase (sGC), reduzierte Expression von P-Selektin
<b>Phytopharmaka</b>		
	Ginseng	
	Gingko biloba	
	Bromelain (Ananasenzym)	
<b>Nahrungsergänzungsmittel, Gewürze und Vitamine</b>		
	Ingwer, Zwiebel, Vitamin E	
	Koffein	Inhibition der Phosphodiesterase
	Kreuzkümmel, Kurkuma, Nelken	
	Alkohol, Omega-3- Fettsäuren	
	Chinesischer schwarzer Baupilz, Knoblauch	
	Luteolin	Reduziert die durch Convulxin induzierte Aktivierung von ITAM- und MAPK- Signalgebungsmolekülen

---

Rutin (quercetin-3-O-rutinoside, isoquercetin)

---

Hemmt die Proteindisulfid-Isomerase (PDI) und blockiert Thrombose wirksam *in vivo*

---

## 4.2. Laboruntersuchungen für Thrombozytenfunktionsstörungen

- **Welche Laboruntersuchungen sollten bei Verdacht auf IPD durchgeführt werden?**

Bei Verdacht auf eine Störung der Thrombozyten soll das Blutbild analysiert werden. Neben der quantitativen Bestimmung der Blutzellen, einschließlich der Retikulozytenzahl, soll eine an den meisten Analysegeräten verfügbare Thrombozytengrößenverteilungskurve, die Bestimmung des mittleren Thrombozytenvolumens (MPV) [27] und eine Quantifizierung der immaturren Plättchenfraktion (IPF) durchgeführt werden [28]. Die IPF soll in Bezug auf das jeweilige MPV interpretiert werden [29]. Die mikroskopische Beurteilung der Thrombozyten, Erythrozyten und Leukozyten ist in der Lichtmikroskopie an gefärbten Blutaussstrichen durchzuführen.

- **Welche Methoden zur Untersuchung von Thrombozytenfunktionen sind für die Diagnose und Klassifizierung von IPDs am zuverlässigsten?**

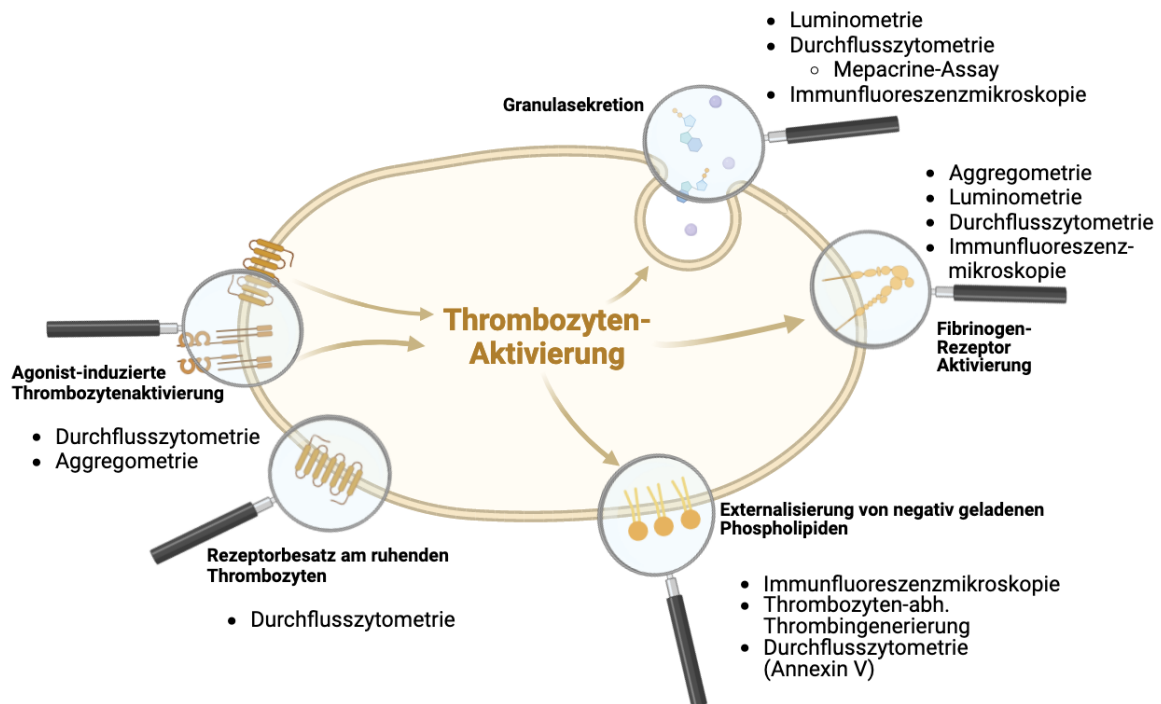
Für die Diagnose und Klassifizierung von angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten sind Methoden wie die **Thrombozytenaggregometrie** (Kapitel 6 Aggregometrie), **Durchflusszytometrie** (Kapitel 7 Durchflusszytometrie), **Immunfluoreszenzmikroskopie** (Kapitel 8 Immunfluoreszenzmikroskopie) und **Molekulargenetik** (Kapitel 10 Molekulargenetische Methoden), besonders zuverlässig (Abbildung 2) [30]. Diese Techniken bieten umfassende Einblicke in die verschiedenen Aspekte der Thrombozytenfunktion und -aktivierung und sind anerkanntermaßen für die Identifizierung spezifischer Pathologien im Rahmen von angeborenen Störungen der Thrombozyten geeignet.

Die **Thrombozyten-abhängige Thrombinbildung**, umfasst Verfahren wie den „Thrombin Generation Assay“ (TGA), und die „Calibrated Automated Thrombography“ (CAT): Kapitel 9.1. Die Thrombozyten-abhängige Thrombingenerierung basiert auf der fluorimetrischen Quantifizierung des Endogenen Thrombinpotenzials (ETP) im Plättchen-reichen Plasma und spiegelt die Gesamtmenge des gebildeten Thrombins im zeitlichen Verlauf wider [31]. Angeborene Defekte der Phosphatidylserin - Oberflächenpräsentation (z.B. Scott Syndrom, OMIM #262890; Stormorken Syndrom, OMIM #185070)



oder andere Störungen, die die Bindung von Gerinnungsfaktoren an aktivierte Thrombozyten betreffen, können durch diese Methode erkannt werden [32, 33].

Von den individuell eingesetzten und seltenen Methoden ist die **Elektronenmikroskopie (ELMI)** oder die suprauflösende Mikroskopiemethode (Super-resolution fluorescence microscopy) [34, 35], mit der man intrazelluläre Strukturen der Thrombozyten, einschließlich der kleinen dichten Körperchen (dense bodies) und andere Moleküle, immunzytochemisch detektieren kann, grundsätzlich als diagnostisches Verfahren anerkannt. Diese Methoden werden nur an sehr wenigen Zentren durchgeführt.



**Abbildung 2: Übersicht von wichtigen Testmethoden zur Diagnose von Störungen der Thrombozyten-Aktivierung.** Die Grafik wurde mit Biorender.com erstellt.

- **Welche Rolle spielen molekulargenetische Analysen bei der Diagnose von IPDs, und wie sollten sie in die diagnostische Vorgehensweise integriert werden?**

Molekulargenetische Analysen sind entscheidend für Diagnosestellung und -sicherung, insbesondere bei unklaren Fällen oder bei spezieller Verdachtsdiagnose. Sie sollen integraler Bestandteil der Diagnostik sein, sind aber nur zusammen mit anderen Untersuchungen, die den Phänotyp der Blutung oder die Funktion der Thrombozyten charakterisieren, klinisch aussagekräftig.

- **Welche diagnostischen Tests können mit versendeten Proben erfolgen?**

Die meisten Blutbildanalysen, einschließlich Blutausstrichbeurteilung, die Immunfluoreszenzmikroskopie an Blutausstrichen, und sämtliche molekulargenetischen Tests können an versendeten Probenmaterial durchgeführt werden. Hierfür ist das gesonderte Kapitel 5.3 Probentransport/-versand, bzw. spezifische Anforderungen an Probenhaltung und -transport zu beachten.

- **Welche Methoden sind zur Untersuchung von Störungen der Thrombozytenfunktion und Diagnose und Klassifizierung von IPDs nur eingeschränkt geeignet?**

Die Bestimmung der Verschlusszeiten mit dem **PFA 100/200<sup>®</sup>** (Innovance, Siemens) ist nur eingeschränkt für die Beurteilung der Thrombozytenfunktion geeignet [36-38]. Voraussetzung für die Durchführung ist eine Thrombozytenzahl  $> 100.000/\mu\text{l}$  und ein Hämatokrit (Hkt) über 30 %. Verkürzte Verschlusszeiten werden durch Hämolyse, Hkt  $> 50\%$  oder Thrombozyten  $> 500.000/\mu\text{l}$  verursacht. Die Verschlusszeiten des PFA 100/200<sup>®</sup> sind bei schweren Störungen der Thrombozytenfunktion, wie bei der Thrombasthenie Glanzmann und beim Bernard-Soulier Syndrom sowie bei der von Willebrand Erkrankung verlängert. Verlängerte Verschlusszeiten finden sich auch bei Ikterus, Hämolyse, Anämie (Hkt  $< 35\%$ ) und Thrombozytopenien. Dagegen ist bei einem Normalbefund das Vorliegen einer Thrombozytenfunktionsstörung oder einer anderen hämorrhagischen Gerinnungsstörung nicht ausgeschlossen. Zu beachten ist, dass der von Willebrand Faktor bei Neugeborenen, Schwangeren und anderen Zuständen (*Akutphasereaktion*) erhöht ist. Bei Kindern mit rezidivierenden Infekten ist mit einer großen Variabilität der Verschlusszeiten zu rechnen. Ein pathologischer Befund bedarf immer einer weiteren Abklärung.

- **Welche Methoden sind zur Untersuchung von Störungen der Thrombozytenfunktion und Diagnose und Klassifizierung von IPDs nicht geeignet und sollten vermieden werden?**

Die *in vivo*-Blutungszeit wird zur Beurteilung von Störungen der Thrombozyten nicht empfohlen.

Ungeeignete Methoden zur Diagnose von angeborenen Thrombozytenstörungen sind der **Rumpel-Leede-Test**, der **Prothrombinverbrauchstest** und der **Thrombusretraktionstest**. Während die **Thrombelastographie** (z.B. ROTEM<sup>®</sup>) einen Stellenwert als *Point-of-Care* Methode zur Beurteilung der Gerinnelbildung hat, ist sie zur Diagnose von angeborenen Störungen der Thrombozytenfunktion ungeeignet.

Das für das *drug-monitoring* entwickelte halbautomatische System **VerifyNow<sup>®</sup>** (Instrumentation

Laboratory) und das **Impact-R**<sup>®</sup> (Matis Medical) sind für die Diagnose von angeborenen Störungen der Thrombozyten nicht geeignet.

### Handlungsempfehlungen 1: Diagnosealgorithmus

↑↑

- **Zur Beurteilung der Blutungsneigung soll ein standardisierter Fragebogen eingesetzt werden.**  
Konsensstärke: 96 %; Neu (2024)
- **Bei Verdacht auf IPD soll zunächst ein Blutbild mit Differentialblutbild, einschließlich Thrombozytengrößenverteilung, mittleres Thrombozytenvolumen (MPV) und soweit verfügbar Quantifizierung der immaturen Plättchenfraktion (IPF), durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Eine mikroskopisch-morphologische Zellbeurteilung an routinemäßig gefärbten Blutaussstrichen soll durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Bei wiederholter, klinisch relevanter, nicht anderweitig erklärbarer Blutungsneigung soll eine erweiterte Gerinnungsdiagnostik, einschließlich der hier angeführten Thrombozytentests, durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)

↑

- **Der pedISTH-BAT (für Kinder) oder ISTH-BAT (für Erwachsene) sollte verwendet werden.**  
Konsensstärke: 86 %; Neu (2024)
- **Ein negativer Blutungs-Score in standardisierten Fragebögen schließt eine leichte/moderate hämorrhagische Gerinnungsstörung nicht aus. Daher sollten bei entsprechendem Verdacht weitere Untersuchungen, zu denen auch eine thrombozytäre Diagnostik zählt, erwogen werden.**  
Konsensstärke: 95 %; Neu (2024)
- **Bei PatientInnen mit Störungen der Thrombozytenzahl und -funktion sollten mögliche komplexe („syndromale“) Erkrankungen in Betracht gezogen werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Für die Diagnose und Klassifizierung angeborener Störungen der Thrombozyten sollten Methoden wie die Aggregometrie, Luminometrie, Durchflusszytometrie, Immunfluoreszenzmikroskopie, Thrombozyten-abhängige Thrombingenerierung ergänzt durch Molekulargenetik verwendet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Molekulargenetische Analysen sollten in begründeten Verdachtsfällen und zur Bestätigung einer Diagnose durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)

↓

- **Die *in vitro* Blutungszeit wie der PFA 100/200<sup>®</sup>, die *in vivo*-Blutungszeit, der Rumpel-Leede-Test, der Prothrombinverbrauchstest, der Thrombusretraktionstest, viskoelastische Testverfahren sowie das VerifyNow<sup>®</sup> und das Impact-R<sup>®</sup> sollten für die Diagnose von IPDs nicht eingesetzt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)

## 5. Präanalytik

### 5.1. PatientIn

- Patient kurz ruhen lassen <sup>1</sup>, kein Fasten <sup>2</sup>
- Koffeinabstinenz mind. 2 h
- Nikotinabstinenz für mindestens 30 min
- Medikamente der letzten Woche dokumentieren
- Medikamente registrieren und nach Möglichkeit pausieren sofern nicht dringend medizinisch indiziert. Effekte der Medikation (Tabelle 8, Tabelle 9) auf die Thrombozytenfunktion bei Befundung berücksichtigen
  - NSAR mind. 3 Tage (unterschiedliche HWZ beachten)
  - Irreversible Aggregationshemmer (ASS) mind. 10 Tage
  - P2Y<sub>12</sub> Hemmer (z.B. Clopidogrel) mind. 7 Tage
  - GP IIb/IIIa Inhibitor (z.B. Abciximab) mind. 3 Tage [20]

### 5.2. Blutgewinnung

- Plastikröhrchen (Polypropylen) oder silikonisierte Glasröhrchen (DIN/ISO 6710 - Vacutainer® möglich), für die Durchflusszytometrie Vacutainer® vermeiden.
- Natriumcitrat 109 oder 129 mM resp. 3,2 oder 3,8 %
- Citrat: Blut = 1 : 9 Teile, eine unzureichende Füllung verändert das Mischverhältnis zwischen Blut und Antikoagulans. Dadurch wird die Funktionalität der Thrombozyten beeinflusst.
- Nadel mit 19 bis 21 G.
- Nur leicht und so wenig wie möglich stauen - bei problematischer Punktion erstes Röhrchen verwerfen.
- Bei schlechten Venenverhältnissen und kleinen Kindern ggf. abtropfen lassen.
- 3 bis 4 ml Vollblut abnehmen und für andere Analysen verwenden.
- Folgeabnahmeröhrchen für Thrombozytenanalyse verwenden - unbedingt Schaumbildung und zu schnelles Abziehen vermeiden.
- Füllung der Röhrchen wie vom Hersteller empfohlen, über-/unterfüllte Probenröhrchen ablehnen.
- Angabe der Uhrzeit der Blutentnahme auf der Probe (als auch Analysezeitpunkt) verzeichnen und zusätzlich dokumentieren.

---

<sup>1</sup> Der Einfluss von den Punktionsschmerz lindernden Lokalanästhetika (EMLA®) auf das Testergebnis ist ungeklärt.

<sup>2</sup> Alimentäre Hyperlipidämie vermeiden - interagiert mit Probenanalyse.

- Blutbild einschließlich Thrombozytenwerte bestimmen (EDTA- und Citrat-Vollblut): Thrombozytenzahl und -größe erfordern gerätespezifische Referenzbereiche [39]; Ausschluss einer Pseudothrombozytopenie durch Vergleich der Thrombozytenkonzentrationen im EDTA- und Citrat-Vollblut; eventuell Verwendung von ThromboExact®-Röhrchen (Sarstedt).

### 5.3. Probentransport/-versand

- Proben nicht kühlen, aber auch vor Überwärmung schützen. Transport bei Raumtemperatur.
- Dokumentation von Dauer und Art des Probenverkehrs.
- Schütteln und mechanischen Stress vermeiden – keine Rohrpost!

Vor dem Versand der Proben ist immer der Kontakt mit dem Analysezentrum notwendig, um die Versand- und Annahmebedingungen des jeweiligen Zentrums zu klären. Die Versendung von Proben zur Beurteilung und Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen ist nur sehr eingeschränkt möglich. Bei der Versendung sollte prinzipiell eine Gesundspender-Kontrolle mitgeschickt werden.

- Das Ergebnis einer **Thrombozytenaggregation** aus einer Blutprobe, die > 4 Stunden nach Blutabnahme untersucht wird, gilt als nicht verwertbar.
- Die **luminometrische Bestimmung der ATP-Freisetzung** wird in einzelnen Zentren bis 24 Stunden nach Blutabnahme durchgeführt.
- **Durchflusszytometrische** Untersuchungen aus zugesendeten Proben werden von einigen Analysezentren durchgeführt, können aber aufgrund der präanalytischen Fehleranfälligkeit nicht grundsätzlich empfohlen werden. Eine Thrombozytenaktivierung mit anschließender Fixierung erhöht die Haltbarkeit der Probe. Der Mepacrine-Test ist möglicherweise weniger störanfällig; eine Auswertung ist bis zu 48 Stunden nach der Blutabnahme möglich. Zur Qualitätssicherung ist der Mitversand einer gleichbehandelten Kontrollprobe unabdingbar.
- Luftgetrocknete Blutaussstriche zur **Immunfluoreszenzmikroskopie** können problemlos versendet werden.
- **Molekulargenetische Untersuchungen** können aufgrund der Stabilität von genetischem Material ebenfalls sehr gut auch an versendeten Proben erfolgen.

### 5.4. Probenvorbereitung

Siehe Kapitel für die jeweilige Methode.

## Handlungsempfehlungen 2: Präanalytik

- |    |  |
|----|--|
| ↑↑ | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Medikamente und Nahrungs(ergänzungs)mittel, die die Thrombozytenfunktion beeinträchtigen, sollen, soweit medizinisch vertretbar, rechtzeitig vor der Thrombozytenfunktionsanalytik abgesetzt bzw. pausiert werden.</b><br/>Konsensstärke: 95 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Bei der Blutabnahme für die Thrombozytenfunktionsanalytik sollen Schaumbildung und zu schnelles Abziehen vermieden werden.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Blutproben sollen bei Raumtemperatur ohne Schütteln und mechanischen Stress transportiert werden.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Der Versand von Blutproben für die durchflusszytometrische Analyse soll nur eingeschränkt, nach Absprache mit dem analysierenden Labor, erfolgen.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Die aggregometrische Analyse einer Blutprobe soll vier Stunden nach Blutabnahme abgeschlossen sein.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li></ul> |
| ↓↓ | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Die Blutabnahme für die Thrombozytenfunktionsdiagnostik soll nicht direkt nach Venenpunktion erfolgen.</b><br/>Konsensstärke: 90 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Unter- und überfüllte Blutabnahmeröhrchen mit Citrat als Antikoagulans sollen nicht weiterverarbeitet werden.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li></ul>  |
| ↑  | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Für durchflusszytometrische Untersuchungen sollte zur Qualitätskontrolle eine gleichbehandelte Gesunderpenderprobe mitversendet und mituntersucht werden.</b><br/>Konsensstärke: 90 %; Neu (2024)</li></ul>   |

## 6. Aggregometrie

Die Aggregometrie ist die Standarduntersuchung der Thrombozytenfunktion, die mit Hilfe verschiedener Agonisten im antikoagulierten Vollblut und spezifisch im plättchenreichen Plasma („platelet-rich plasma“; PRP) erfolgt.

### 6.1. Lichttransmissionsaggregometrie (LTA)

Seit der ersten Beschreibung der Thrombozytenaggregationstestung hat sich die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) nach Born kaum verändert und wird noch heute als Referenzmethode durchgeführt [40-43]. Um die verschiedenen Thrombozytenfunktionen zu testen, hat sich die Verwendung eines Panels mit mindestens drei bis vier verschiedenen Agonisten – Adenosindiphosphat (ADP), Kollagen, Arachidonsäure und Epinephrin sowie Ristocetin – bewährt.

## 1. Prinzip

- Kontinuierliche Registrierung der im Verlauf der Aggregation sich ändernden Transmission langwelligeren Lichts.
- In einem in Bewegung gehaltenen plättchenreichen Citratplasma oder in einer Suspension gewaschener Thrombozyten kommt es nach Zusatz von Agonisten zur Aggregation.
- Zunehmende Aggregation führt zum Auftreten von Aggregaten und damit zur Zunahme der Lichttransmission, welche fortlaufend photometrisch registriert und in Kurvenform aufgezeichnet wird.

## 2. Präanalytik

Bei der LTA ist die Präanalytik von hoher Bedeutung. Die Einhaltung dieser sollte schriftlich festgelegt sein, und Risiken bei Nichtbeachtung sollten beachtet werden.

Patient, Blutgewinnung und Probentransport/-versand, siehe Kapitel 5 Präanalytik.

Folgende Punkte sollten dokumentiert werden [44]:

- Zeitpunkt der Blutentnahme
- Dauer und Art des Probenverkehrs
- Max. Zeit zwischen Abnahme und Zentrifugation
- Ruhezeit zwischen Zentrifugation und Messung

Um eine gleichbleibende Qualität der Thrombozytenfunktions-Analyse zu erhalten, ist es unabdingbar, Ruhezeiten einzuhalten. Verkürzte oder verlängerte Ruhezeiten können zur Voraktivierung der Thrombozyten führen, was die Funktionalität beeinflusst.

### **Probenvorbereitung:**

- Zentrifugation bei Raumtemperatur
- Bei einer Thrombozytenzahl in Ausgangsprobe  $< 100.000/\mu\text{l}$  Probe spontan sedimentieren lassen oder schonende Zentrifugation nach Laborspezifikation. Dies gilt insbesondere für Makrothrombozytopathien/-penien.
- Probe (Citratblut) 30 - 60 min bei Raumtemperatur vor Zentrifugation ruhen lassen, um eine abnahmebedingte reversible Voraktivierung der Thrombozyten zu vermindern
- Plättchenreiches Plasma (PRP)
  - 150 - 200 x g für 10 min für eine optimale Aufkonzentrierung der Thrombozyten mit normalem MPV im PRP

- Keine bzw. niedrigste Bremse, um eine gute Phasentrennung von PRP und „Buffy-Coat“ zu gewährleisten
  - Für Riesenplättchen: Sedimentation für ca. 45 min, bei einem Winkel von 45° Winkel, nicht aufrichten und im 45° Winkel belassen für PRP Entnahme.
  - Probe 15 - 45 min bei Raumtemperatur vor Analyse ruhen lassen, um eine zentrifugationsbedingte reversible Voraktivierung der Thrombozyten zu vermindern
  - Thrombozytenkonzentration im PRP messen.
  - Keine Einstellung der Thrombozytenkonzentration erforderlich, wenn Thrombozytenkonzentration im PRP zwischen 150.000 und 600.000/ $\mu$ l.
  - Bei Thrombozytenkonzentration im PRP < 150.000/ $\mu$ l Kontrolle mit äquivalenter Thrombozytenkonzentration mitmessen.
  - Bei hoher Thrombozytenkonzentration  $\geq$  600.000/ $\mu$ l mit autologem plättchenarmem Plasma („platelet-poor plasma“; PPP) korrigieren und auf 200.000 bis 300.000/ $\mu$ l einstellen.
- Plättchenarmes Plasma (PPP)
  - 1500 x g für 10 - 15 min.
- Qualität der Proben kontrollieren.
- Hämolytische Proben verwerfen.
- Lipidämie dokumentieren.
- Max. Zeit zwischen Abnahme und Messung beachten.

### 3. Methodik und Anwendbarkeit

- Normalkontrolle als Qualitätsstandard mindestens 1 x/Wo mitführen.
- Kalibrierung des Gerätes mit plättchenarmen autologen Plasma als Markierung der Lichttransmission von 100 %.
- PRP bezeichnet den Nullwert der Lichttransmission.
- Rührgeschwindigkeit: 1000 U/min
- Temperatur: 37°C
- Kurve vor Induktorzugabe für mind. 1 min beobachten (stabile Grundlinie, Spontanaggregation registrieren).
- Agonistenmenge (wässrige Lösung) darf 10 % des Probenvolumens nicht übersteigen.
- Beobachtung der Kurve für mind. 10 min bzw. bis zur maximalen Amplitude.



- Abschluss der Untersuchung möglichst nach 2 h, spätestens 4 h nach Blutabnahme (Zeitpunkt dokumentieren!).

### **Agonisten [45-49]**

- Agonisten frisch am Tag der Messung zubereiten bzw. auftauen, Herstellerangaben beachten.
- Prinzip: zunächst niedrige Agonistenkonzentration wählen, da hohe Konzentrationen Defekte verdecken können.
- Keine sequentielle Agonistenzugabe! Ausnahme: Ristocetin.
- Ristocetin: 0,5 – 1,2/1,5 mg/ml (0,5 bis 0,6 mg/ml zur Erfassung des Platelet-type VWD, aber auch bei VWD Typ 2B). Bei Neugeborenen sind niedrigere Endkonzentrationen des Agonisten erforderlich.
- Agonisten mit Endkonzentrationen:
  - Arachidonsäure („arachidonic acid“; AA): 1,0 - 1,5 mM
  - ADP: 2 - 3  $\mu$ M (Verdopplung der Konz. falls keine Reaktion mit niedriger Konz.) – Beurteilung der „second wave“. Eine Probe sollte bei einer Konzentration von 2-3  $\mu$ M reagieren. Nach Standzeit benötigen Proben höhere Konzentrationen: Erhöhung auf 5-10  $\mu$ M.
  - Epinephrin: 5  $\mu$ M (ggf. höhere Dosis, z.B. 10  $\mu$ M)
  - Kollagen: 2  $\mu$ g/ml (ggf. höhere Dosis, z.B. 5  $\mu$ g/ml) je nach Art des Kollagens!
  - TRAP-6: 10  $\mu$ M (bis 50  $\mu$ M) (Formulierung wichtig für Aktivität!)
  - U46619: 1  $\mu$ M und mehr (Herstellervorgabe beachten![45-49])

Die Verwendung eines Panels von mindestens drei bis vier verschiedenen Agonisten, wie ADP, Kollagen, Arachidonsäure, Epinephrin, PAR-1 Agonist und Ristocetin tragen zu einer umfassenden Bewertung einer angeborenen Thrombozytenstörung bei.

### Adenosindiphosphat (ADP)

- Defekt des P2Y<sub>12</sub>-Rezeptors inklusive Gi-like Defekt
- Thrombasthenie Glanzmann und Glanzmann-ähnliche Defekte (LAD-III, CalDAG-GEFI)
- $\delta$ -storage pool disease (SPD)
- Thromboxan-Synthase Defekt
- COX-1-Mangel
- Mangel an zytosolischer Phospholipase A<sub>2</sub>
- Thromboxan-Rezeptor-Defekt

### Arachidonsäure

- Thromboxan-Synthase Defekt
- COX-1-Mangel
- Thromboxan-Rezeptor-Defekt
- Thrombasthenie Glanzmann und Glanzmann-ähnliche Defekte (LAD-III, CalDAG-GEFI)
- $\delta$ -SPD
- P2Y12-Rezeptordefekt

### Kollagen

- Defekt des GPVI-Rezeptors (niedrige Konzentration)
- Thrombasthenie Glanzmann und Glanzmann-ähnliche Defekte (LAD-III, CalDAG-GEFI)
- P2Y12-Rezeptordefekt
- $\delta$ -SPD (niedrige-mittlere Konzentration)
- Thromboxan-Synthase Defekt
- COX-1-Mangel
- Mangel an zytosolischer Phospholipase A2
- Thromboxan-Rezeptor-Defekt

### Epinephrin

- $\alpha$ 2-adrenerger Rezeptordefekt inklusive Gi-like Defekt
- Thrombasthenie Glanzmann und Glanzmann-ähnliche Defekte (LAD-III, CalDAG-GEFI)
- $\delta$ -SPD
- P2Y12-Rezeptordefekt
- Thromboxan-Synthase Defekt
- COX-1-Mangel
- Mangel an zytosolischer Phospholipase A2
- Thromboxan-Rezeptor-Defekt
- Québec-Thrombozytenstörung (QPD)

### Ristocetin

- Bernard-Soulier Syndrom

- Von-Willebrand Erkrankung (VWD) vom Thrombozytentyp (Platelet-type VWD) und vom Typ 2B

Differentialdiagnostisch erkennt man eine *Thrombasthenie Glanzmann und Glanzmann-ähnliche Defekte* durch die gestörte Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten induziert durch physiologische Agonisten mit der Ausnahme von Ristocetin. Demgegenüber zeigen Thrombozyten von PatientenInnen mit *Bernard-Soulier Syndrom* typischerweise eine gestörte Ristocetin-induzierte Thrombozyten-Agglutination aber eine unauffällige Aggregation auf alle anderen Agonisten.

Bei dem *Platelet-type VWD* zeigen unerschwellige Ristocetin-Konzentrationen eine erhöhte max. Aggregation im Vergleich zu Normalprobanden. Da dieses Muster ebenfalls bei der VWD vom Typ2B zu beobachten ist, kann differentialdiagnostisch ein Plasmatauschversuch durchgeführt werden, um zu entscheiden, ob der VWF im Plasma (VWD 2B) oder der VWF-Rezeptor GPIb auf den Thrombozyten pathologisch überreagiert (*Platelet-type VWD*).

Die LTA eignet sich nur bedingt zur Detektion eines  $\alpha$ - oder  $\delta$ -SPD, da sie nicht spezifisch und nur indirekt diese Defekte erkennen kann. Besonders bei Patienten mit  $\delta$ -SPD ist die LTA nur sensitiv, wenn man auch niedrige-mittlere Konzentrationen der Agonisten ADP und Kollagen testet, da hohe Konzentrationen den Defekt verdecken können.

Bei allen genannten Thrombozytopathien sollten entsprechende durchflusszytometrische Untersuchungen zur Bestätigung und Spezifizierung der Erkrankung durchgeführt werden (siehe Kapitel 7 Durchflusszytometrie). Bei strukturellen Defekten der Thrombozyten, wie z.B. quantitativer Rezeptordefekt, SPD, sollte auch eine Immunfluoreszenzmikroskopie zur Bestätigung durchgeführt werden.

Limitierung:

- Thrombozytopenie: niedrige Thrombozytenzahlen sind häufig an das Vorliegen von vergrößerten Thrombozyten assoziiert. Diese setzen sich bei der Gewinnung von PRP zusätzlich mit den Erythrozyten unten ab und führen zur fehlenden Anreicherung im PRP.

Störgrößen:

- Hyperbilirubinämie, Hyperlipidämie, Hämolyse

### **Beurteilung von Aggregationskurven**

- Visuelle Beurteilung der Kurven auf Plausibilität.
- Obligatorischer Bericht: max. Aggregation in % und deren Bewertung. Bei der LTA sollte neben der max. Aggregation (%) auch der Kurvenverlauf bewertet werden: Latenzphase (*lag-time*), Aggregationsgeschwindigkeit (Kurvenanstieg), Hinweise auf Desaggregation (vorhanden, bei >10 % → Angabe), 1. Phase und 2. Phase der Aggregationsantwort.
- Optionaler Bericht: Formenwandel (*shape change*), Bestimmung der Fläche unter der Aggregationskurve.
- Gesamtbeurteilung: normal, grenzwertig oder pathologisch

### **4. Referenzbereiche, Standardisierung und Qualitätskontrolle**

Für jeden Agonisten und jede Konzentration sollen hauseigene Referenzwerte durch mindestens jeweils 20 Analysen erfolgen – besonders wichtig bei Kollagen aufgrund der unterschiedlichen Kollagenarten mit erheblichem Einfluss auf die Testergebnisse. Referenzbereiche definieren, bei größeren Fallzahlen dafür auch Verwendung von Perzentilen möglich. Als pathologisch sind alle Werte anzusehen, die außerhalb eines Bereiches von  $\pm 2$  SD liegen (Normalverteilung vorausgesetzt). Wenn möglich, sollten Referenzbereiche für verschiedene Altersgruppen erstellt werden.

Die Durchführung der Untersuchung und die Interpretation der Befunde sind nur bedingt standardisierbar und unterliegen daher einer großen Variabilität [45, 50, 51]. Fachgruppen und Organisationen haben sich in den letzten Jahren der Standardisierung dieser Methode gewidmet [45-50, 52-55]. Ringversuche für die LTA können durch Versand stabiler Agonisten reproduzierbar durchgeführt werden [46], aber es gibt aktuell keine offiziellen externen Ringversuche. Eine Möglichkeit wäre der Austausch von Laborproben zwischen verschiedenen Laboren. Zur Überprüfung der Agonisten sollte immer eine tagesaktuelle Gesundspender-Kontrolle mitgeführt werden. Wenn eine Patientenuntersuchung eine normale Aggregation zeigt, kann auf die tagesaktuelle Gesundspender-Kontrolle verzichtet werden. Pathologische Befunde sollten an einem anderen Tag validiert werden.

### **6.2. Impedanzaggregometrie (IA) im Vollblut – Whole Blood Aggregometry (WBA)**

Die Impedanzaggregometrie (IA) ist eine schwierig zu standardisierende Variante der Aggregometrie bei der eine mit Citrat- oder Hirudin-antikoagulierte Vollblutprobe analysiert wird. Die Vollblutaggregometrie ist technisch einfach, denn der Agonist wird direkt zur Probe hinzugefügt und der einsetzende Impedanzanstieg aufgezeichnet. Diese Methode findet vorwiegend Verwendung als *point-of-care* in semi-automatischen Geräten [56]. Untersuchungen im Vollblut sind deutlich insensitiver als die LTA im PRP. Daher ist die IA zum sicheren Ausschluss einer

Thrombozytenfunktionsstörung nicht geeignet [57, 58]. Zusätzlich wurden weitere prä-analytische Einflussgrößen beschrieben. Dazu gehören unter anderem die Zeit zwischen Blutabnahme und Analytik, sowie die Thrombozytenkonzentration [44, 59, 60]. Zur Überwachung einer Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern ist die Methode jedoch etabliert [58].

### 1. Prinzip

- Eine Halterung mit zwei Elektroden wird in die mit einem Rührstäbchen versehene, auf 37°C erwärmte Probe eingetaucht.
- Mit Zugabe eines Agonisten kommt es zu einer Impedanzerhöhung infolge der Anlagerung von aggregierten Thrombozyten an die Elektroden, welche als zeitliche Funktion der Impedanzzunahme aufgezeichnet wird.
- Im Gegensatz zur LTA ermöglicht die IA funktionelle Untersuchungen mit deutlich kleineren Blutmengen, da die Präparation von PRP entfällt.

### 2. Präanalytik

**Patient, Blutgewinnung und Probentransport/-versand:** siehe Kapitel 5 Präanalytik

- Ausnahme: **Multiplate**<sup>®</sup> ist vom Hersteller für Hirudin-antikoagulierte Proben zertifiziert. Empfohlenes Abnehmeröhrchen: HIRUDIN 4,5 ml für Multiplate Analyse.

#### **Probenvorbereitung**

- Vor Test, Blut für mindestens 10 - 30 min bei Raumtemperatur ruhen lassen.
- Im Chronolog<sup>®</sup>-Aggregometer Blut in die mit NaCl 0,9 % vorgefüllten Küvetten im Verhältnis von 1:1 überführen und bei 37 °C für 15 bis 20 min im Gerät vorwärmen.
- Die Vollblutprobe für Multiplate<sup>®</sup> laut Vorgabe (mit dem Gerät verbundene halbautomatische Pipette) mit NaCl 0,9 % verdünnen.
- Abschluss der Untersuchung spätestens nach 2 h (Multiplate<sup>®</sup>) und 3 h (WBA) nach Blutabnahme (Zeitpunkt dokumentieren!).

### 3. Methodik

#### **Geräte**

- Chronolog-Aggregometer<sup>®</sup> (Chronolog Corporation).
- Multiplate<sup>®</sup> (Roche Diagnostics).

#### **Agonisten (Chronolog Aggregometer<sup>®</sup>)**

- Agonisten frisch am Tag der Messung zubereiten bzw. auftauen, Herstellerangaben beachten.

- Gleiches Prinzip wie bei LTA - mit niedriger Agonistenkonzentration beginnen.
- ADP: 10  $\mu$ M (ggf. steigern auf 20  $\mu$ M)
- Kollagen: 1  $\mu$ g/ml (ggf. steigern auf 2  $\mu$ g/ml)
- Arachidonsäure: 0,5 mM (ggf. steigern auf 1,0 mM)
- Ristocetin: 1,25 mg/ml (0,2 – 0,6 mg/ml bei Verdacht auf VWD Typ 2B bzw. Platelet-type VWD)

### **Agonisten (Multiplate®)**

Für das Multiplate® werden vom Gerätehersteller folgende Tests angeboten (Online Produktinformation von ROCHE, Stand 21.02.2024):

<b>Test</b>	<b>Beschreibung</b>
TRAP-Test	Abklärung der Thrombozytenstimulation über den Thrombinrezeptor (unter Verwendung des Thrombinrezeptor aktivierenden Peptids-6, TRAP-6); sensitiv auf GP-IIb/IIIa-Antagonist-Reagenz.
ASPI-Test	Abklärung der Cyclooxygenase-abhängigen Plättchenaggregation (unter Zugabe von Arachidonsäure); sensitiv auf ASS, NSAIDs und andere Inhibitoren der Plättchen-Cyclooxygenase.
ADP-Test	ADP-induzierte Thrombozytenaktivierung für den sensitiven Nachweis der Wirksamkeit von Clopidogrel, Prasugrel und anderen ADP-Rezeptorantagonisten.
ADP-Test HS	Prostaglandin E1 Reagenz - Zusatzreagenz zum ADP-Test. Die Zugabe des endogenen Inhibitors PGE1 erhöht die Sensitivität dieses Tests gegenüber Clopidogrel, Prasugrel und anderen ADP-Rezeptorantagonisten.
GPIIb/IIIa-Antagonist-Reagenz	Inhibitor des thrombozytären GP-IIb/IIIa-Antagonist-Reagenz. Die Zugabe von GP-IIb/IIIa-Antagonist-Reagenz zur Blutprobe führt zu einer stark verminderten Aggregation im TRAPtest.

### **Auswertungsmodus der Aggregationskurven (Chronolog®-Aggregometer)**

- Vor Beginn der Messung Kalibration mit einer mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllten Küvette.
- Charakterisierung der Aggregationskurven durch folgende Parameter:
  - Obligatorisch: Maximale Aggregation (in Ohm) und Latenzphase (*lag-time* in s).
  - Optional: Aggregationsrate und Fläche unter der Kurve

- Altersabhängige Referenzbereiche beachten [31, 32].

### **Auswertungsmodus der Aggregationskurven (Multiplate®)**

- Parameter: Fläche unter der Kurve (*Area Under the Curve* in *Units* (AUC)), maximale Aggregation (*Aggregation Units*), Aggregationsgeschwindigkeit (*Velocity* in U/min).

### **6.3. Luminometrische Bestimmung der ATP-Freisetzung**

Mit dieser durch Lundin *et al.* erstmals vorgestellten Methode wird die thrombozytäre ATP-Freisetzung gemessen, wodurch Sekretionsdefekte der  $\delta$ -Granula (Storage-Pool-Defekt) identifiziert werden können [61, 62].

#### **1. Prinzip**

- Citrat-antikoaguliertem Vollblut oder PRP wird das Luciferin-Luciferase-Reagenz (LLR) zugefügt, welches in Gegenwart von ATP luminesziert.
- Die bei der ATP-Freisetzung entstehende Lumineszenz wird photometrisch von einem Photomultiplier erfasst.
- Mit Hilfe eines externen ATP-Standards erfolgt die Auswertung der ATP-Freisetzungskurve.

#### **2. Methodik**

##### **Gerät**

- Chronolog-Lumiaggregometer® (Chronolog Corporation)

##### **Agonisten**

- Vorbereitung des Testes und der Agonisten nach Herstellervorgaben!
- Ansätze nach Zugabe von Luciferin-Luciferase-Reagenz bei 37 °C für 2 min vorwärmen
- Kollagen: 2 µg/ml
- Thrombin: 1 U/ml oder TRAP-6 (20 µM)

##### **Auswertungsmodus der Freisetzungskurve**

- Freisetzungskurve bis zum Erreichen des Peaks aufzeichnen.  
Parameter zur Charakterisierung der ATP-Freisetzungskurve:
  - Obligatorisch: maximale ATP-Freisetzung (Berechnung erfolgt unter Verwendung eines ATP-Standards mit definierter ATP-Menge, die einer separaten Probe zugegeben wird. Optional: Reaktionszeit bis zum Erreichen des Peaks)

- Altersabhängige Referenzwerte beachten

#### 6.4. Automatisierte Lichttransmissionaggregometrie

Mittlerweile werden von größeren Diagnostika-Herstellern Messsysteme angeboten, welche die Pipettierschritte (PRP und PPP-Transfer, Verdünnung und Zugabe der unterschiedlichen Induktoren) alleinstehend oder in Gerinnungsanalytoren integriert anbieten, wobei sich die automatisierten Prozesse gerätespezifisch u.a. in folgenden Punkten unterscheiden:

- Herstellerspezifisch unterschiedliche Techniken der PRP-Durchmischung in der Küvette
- unterschiedliche Sensitivität und Spezifität der Induktorreaktivitäten (u.a. keine Shape-Change Darstellung)
- unterschiedlich erforderliche Thrombozytenkonzentrationen bzw. Grenzen für die LTA-Messungen
- unterschiedliche Mess-Wellenlängen mit Einfluss auf die *Mie*-Streuung und Messempfindlichkeit je nach verwendetem Induktor [63]

Die Automatisierung geht z.T. gerätespezifisch mit einem deutlich verringerten Probenvolumen, einer möglichen Durchsatzerhöhung, sowie einer Reduktion der Turnaround Time (TAT) einher (24). Im Rahmen der möglichen Reduktion der PRP-Volumina (klassischerweise in manuellen Ansätzen 500 µl PRP) auf 140 µl ist eine Anpassung der Rührgeschwindigkeiten (je nach eingesetztem Gerät) bei identischer Induktor-Konzentration aufgrund geänderter physikalischer Kenngrößen erforderlich<sup>3</sup>.

Hinsichtlich Qualitätssicherung im Rahmen von möglichen Ringversuchen (Nota: Bis dato noch nicht realisiert) ist bei einem anvisierten Probenaustausch zwischen diversen Laboratorien zu beachten, dass bis dato Gerätevergleiche zwischen den unterschiedlichen Anbietern nur begrenzt vorliegen und die Ergebnisse somit nach aktuellem Stand derzeit nicht verglichen werden können.

---

<sup>3</sup> Metzner und Otto (1957), beschreiben eine lineare Beziehung zwischen Rührerdrehzahl und scheinbarer Schergeschwindigkeit (scheinbaren Scherraten, mittlere oder effektive Schergeschwindigkeiten) im laminaren Strömungsbereich:  $\gamma = k \cdot n$  ( $\gamma$ : scheinbare Schergeschwindigkeit /  $s^{-1}$ ;  $k$ : Metzner-Otto Konstante;  $n$ : Rührerdrehzahl /  $s^{-1}$ ). Der Betrag der Metzner-Otto Konstanten ist eine reaktorspezifische Größe.

Die mittlere und lokale Energiedissipation ( $\epsilon(\emptyset)$ ) nach Henzler und Biedermann (1996) gibt an, welchen Beanspruchungen die Partikel in Abhängigkeit von Partikelgröße und Leistungseintrag ausgesetzt sind:

$$\epsilon(\emptyset) = \frac{P}{\rho \cdot V} \quad (P: \text{mechanischen Leistungseintrag} / W; \rho: \text{Dichte} / \text{kg m}^{-3}; V: \text{Flüssigkeitsvolumen} / \text{m}^{-3})$$

Zitat Peter Riedlberger - <https://mediatum.ub.tum.de/doc/1097997/1097997.pdf>



Die automatisierte LTA ermöglicht auch nicht spezialisierten Laboratorien mehr und mehr die Möglichkeit selbstständig eine primär orientierende Untersuchung der Thrombozytenfunktion vorzunehmen. Es ist anzumerken, dass die bisherigen, für den Einsatz der automatisierten LTA auf dem Markt befindlichen, Geräte zum großen Teil nur für die Abklärung des Effekts einer antithrombozytären Medikation (z.B. ASS und / oder ADP-Rezeptorantagonisten) validiert wurden, nicht jedoch für die Abklärung hereditärer Thrombozytopathien oder anderweitig erworbener Thrombozytopathien. Somit bleibt unberührt hiervon die erforderliche Notwendigkeit einer weiterführenden Diagnostik in einem spezialisierten Gerinnungslabor auch bei einem unauffälligen Ergebnis der automatisierten LTA bei anamnestisch und klinisch bestehender Blutungsneigung des Patienten.

Weitere Studien bezüglich Standardisierung und Vergleichbarkeit der bis dato auf dem Markt befindlichen wenigen Geräte für die automatisierte LTA sind vor einem weit verbreiteten Einsatz erforderlich.

### Handlungsempfehlungen 3: Aggregometrie

- |    |   |
|----|---|
| ↑↑ | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Die Lichttransmissionsaggregometrie (LTA) soll zur Diagnose von IPDs verwendet werden.</b><br/>Konsensstärke: 90 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Bei der LTA soll neben der max. Aggregation (%) auch der Kurvenverlauf (lag-time, Aggregationsgeschwindigkeit, Desaggregation) bewertet werden.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Pathologische Aggregometrie-Befunde soll in einer separaten Folgeuntersuchung validiert werden.</b><br/>Konsensstärke: 94 %; Neu (2024)</li></ul>  |
| ↑  | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Die Luminometrie sollte bei Verdacht auf eine Storage-Pool-Erkrankung (<math>\delta</math>-Granula) verwendet werden.</b><br/>Konsensstärke: 84 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Die LTA sollte mit mindestens drei Thrombozyten-Aktivatoren und Ristocetin durchgeführt werden.</b><br/>Konsensstärke: 76 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Die Präanalytik-Protokolle sollten schriftlich festgelegt sein und folgende Punkte umfassen: Zeitpunkt der Blutabnahme, Dauer und Art des Proben transports, maximale Zeit zwischen Abnahme und Zentrifugation, Ruhezeit zwischen Zentrifugation und Messung.</b><br/>Konsensstärke: 75 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Die LTA sollte der Impedanzaggregometrie im Vollblut (WBA) gegenüber bevorzugt werden.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li></ul> |

## 7. Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie ist insbesondere in der immunologischen Zelldiagnostik etabliert, sie eignet sich aber auch für die Immunphänotypisierung und Funktionsanalyse von Thrombozyten [13, 64]. Insbesondere Erkrankungen der Thrombozyten, die mit dem Verlust eines oder mehrerer Oberflächenrezeptoren einhergehen (z.B. Thrombasthenie Glanzmann, Bernard-Soulier Syndrom) können mit Hilfe der Durchflusszytometrie diagnostiziert werden. Weiterhin lassen sich Storage-Pool-Erkrankungen, d.h.  $\alpha$ - /  $\delta$ - Granuladefekte, durchflusszytometrisch identifizieren [13, 64, 65]. Die besonderen methodischen Vorteile liegen in der geringen benötigten Blutmenge, Durchführbarkeit auch bei ausgeprägter Thrombozytopenie und Detektion von spezifischen Funktionsdefekten der Thrombozyten [66, 67]. Allein und in Kombination mit der LTA stellt die Durchflusszytometrie eine stark diskriminative Methode zur Detektion von angeborenen Thrombozytenfunktionsstörungen dar [68-70].

### 1. Prinzip

Die Durchflusszytometrie erlaubt es die Größe und Granularität von Thrombozyten aufgrund ihrer lichtstreuenden Eigenschaften zu bestimmen. Darüber hinaus können konstitutiv exprimierte Oberflächenrezeptoren durch spezifische Farbstoff-gekoppelte monoklonale Antikörper markiert und deren Expression gemessen werden. Aussagen über die Reaktivität von Thrombozyten lassen sich durch funktionelle Analysen machen, die nach standardisierter Aktivierung erfolgen. Dabei werden unter anderem auch intrinsische Granulainhaltsstoffe und -membranmarker (z.B. CD62P, CD63) quantifiziert. Technisch ist die Durchflusszytometrie eine Einzellanalyse, die daher auch die Analyse von thrombozytopenen Proben und die Auswertung verschiedener Thrombozytensubpopulationen (wie z.B. sog. prokoagulative Thrombozyten) erlaubt.

### 2. Präanalytik

Patient, Blutgewinnung und Probentransport/-versand, siehe Kapitel 5 Präanalytik.

#### **Probenvorbereitung**

- Analyse mit Citrat antikoaguliertem Vollblut ohne Fixanz/ Konservierung empfohlen.
- Die Analyse von Puffer-verdünnten PRP-Proben ist ebenfalls möglich, wenn keine großen Thrombozyten und keine schwere Thrombozytopenie vorliegen (CAVE: Makrothrombozytopenie)
- Probenverarbeitung 30 - 90 min nach Abnahme.
- Vollblut: empfohlene Rezeptoranalysen, Inkubation von Farbstoff-gekoppelten Antikörpern ca. 15 min im Dunkeln, dann mit Puffer (z.B. PBS, pH 7,4 mit 1% BSA) verdünnen und messen (Messung bis zu 4 Stunden nach Abnahme möglich/ bis 3 Stunden nach erfolgter Färbung. CAVE: Rezeptor-Shedding).

- Bei Aktivierungsstudien (Vollblut, PRP), Inkubation mit Aktivator für 5 min, anschließend für weitere 15 min Antikörper dazu (im Dunkeln inkubieren!), dann Abstoppen mit Puffer (z.B. PBS, pH 7,4 mit 1% BSA) und innerhalb von 30 - max. 60 min messen.
- Vollblut: Keine Lyse der Erythrozyten durchführen. CAVE: Freisetzung von ADP und ATP bewirkt artifizielle Thrombozyten-Aktivierung.
- Formaldehyd-basierte Fixierung möglich, besonders bei Aktivierungsstudien (Vollblut, PRP): 0.2 % - 1,0 % finale Konzentration, 10 - 30 min bei Raumtemperatur. CAVE: Antikörpermarkierung bevorzugt vor der Fixierung, besonders für Antikörper, die aktivierungsabhängige Antigene erkennen, wie z.B. PAC-1.

### 3. Methodik und Anwendbarkeit

#### **Apparative Voraussetzung [71]**

- Durchflusszytometer - allgemeine Qualitätskontrollen werden vorausgesetzt, wie z.B. regelmäßige Kalibrierung des Zytometers mit Hilfe von gerätespezifischen fluoreszierenden Beads (Cytometer Set-up and Tracking (CS&T) Beads, CytoFLEX Daily QC Fluorospheres usw.).
- Thrombozytenzahl: Vollblutprobe benötigt im Regelfall keine Einstellung der Thrombozytenzahl. CAVE: Gesamtzellzahl darf nicht über der "Auflösung" des Gerätes liegen (am FACS-Canto II z.B. 10.000 events / sec).
- Ansatz in Polypropylenröhrchen.
- Direkt Farbstoff-markierte Antikörper verwenden, Tandem-Konjugate vermeiden, und bei neuen Fluorophoren (Alexa-Farbstoffe, Brilliant-Violet-Farbstoffe) ist eine vorsichtige Titration erforderlich.
- Schwach exprimierte Antigene mit stark fluoreszierenden Fluorophoren markieren (z.B. PE); stark exprimierte Antigene mit schwächeren Fluorophoren markieren (z.B. FITC).
- Positive immunologische Erkennung der Thrombozyten durch Färbung eines konstitutiv hoch exprimierten Rezeptors mit einem AK gegen CD41a/CD61 oder CD42a/b.
- Sichere Erkennung von schwach exprimierten Rezeptoren oder aktivierungsabhängig exprimierten Rezeptoren durch Messung einer adäquaten Isotyp-Kontrolle vor der jeweiligen Rezeptormessung (IgG oder IgM (z.B. PAC-1) beachten!). Bei Mehrfarbenmessungen sollte jeweils eine Fluorescence-minus-one (FMO) Kontrolle verwendet werden.
- Darstellung der FSC- und SSC-Signale (Scatterplot) in logarithmischer Skalierung (auf Schwellenwerte "Threshold"-Einstellung achten).

- Kompensation der Emissionsspektren verschiedener Farbstoffe bei Mehrfarben-Messungen manuell oder automatisch erforderlich (siehe FITC/PE), abhängig von der Konfiguration der verwendeten Maschine (Laser-Ausstattung).
- Stop-Kriterium der Messung: ca. 10.000 Thrombozyten (z.B. CD41a-positive Ereignisse im FSC/SSC-Gate). Es wird empfohlen, alle Zellen abzuspeichern um Makrothrombozyten und Thrombozyten-Thrombozyten oder Thrombozyten-Leukozytenaggregate identifizieren zu können.

Die Thrombozytenkonzentration kann durchflusszytometrisch mit Hilfe von Zähl-Beads ermittelt werden. CAVE: Beads sollten nicht in Messansätzen verwendet werden, die speziell für die Untersuchung der Thrombozytenfunktion gedacht sind.

### **Antikörper**

Bei der Auswahl der richtigen Antikörper ist zu beachten, dass sich die Emissionsspektren der gekoppelten Farbstoffe nicht überlappen bzw. diese durch unterschiedliche Laser angeregt werden. Dies lässt sich allerdings bei mehrfach-gefärbten Proben nicht immer vermeiden. Daher ist eine Kompensation mit einzel-gefärbten Proben (entweder per Hand oder automatisch) essenziell. Wenn möglich, sollten Tandem-konjugate vermieden werden. Bei der Verwendung neuer Antikörper sollten die AK-Konzentration titriert werden.

*Empfohlen werden Antikörper gegen folgende Oberflächenrezeptor-Antigene [65, 72]:*

CD41a	Fibrinogenrezeptor (GPIIb/IIIa) - gesamter Komplex (stöchiometrisch, z.B. Klon P2)
CD41b	Fibrinogenrezeptor (GPIIb)
CD61	Fibrinogenrezeptor, Integrin beta3 (GPIIIa)
CD42a/b/c	von Willebrand Faktor Rezeptor (GPIX/Ib $\alpha$ /Ib $\beta$ )
GPVI	Kollagenrezeptor
CD49b/CD29	Kollagenrezeptor (GPIa/IIa)

Eine fehlende oder verminderte Expression von Oberflächenrezeptoren bei der Thrombasthenie Glanzmann (CD41/CD61), des Bernard-Soulier-Syndroms (CD42a-c) und beim Kollagen-Rezeptormangel (GPVI; CD49b/CD29) wird durch die Durchflusszytometrie zuverlässig detektiert [48].

CD42d	gescheddetes Glykoprotein V. hemmt einige, insb CD42b/ GPIb $\alpha$ abhängige Thrombozytenfunktionen.
-------	--

Glanzmann-Diagnostik<sup>4</sup>: Thrombozyten-Konzentration normal, Größe (*Forward Scatter*) normal.

CD41 heavy and light chain, CD61: vermindert

CD42a/b/c/d: normal

Aktivierungsmarker PAC-1 (als Alternative FITC-/Al488-markiertes Fibrinogen statt PAC-1): vermindert

Glanzmann- Typ I: CD41a < 10 % (Fibrinogenrezeptor GPIIb/IIIa homozygot verändert)

Glanzmann- Typ II: CD41a >10 %

Bernard-Soulier-Diagnostik: Thrombozyten-Zahl: vermindert, Größe (*Forward Scatter*): erhöht

CD42a (GPIX): vermindert

CD42b (GPIb $\alpha$ ): vermindert

CD42c (GPIb $\beta$ ): vermindert. Es können selektiv einzelne Komponenten oder mehrere Untereinheiten durch stöchiometrische Bindungseffekte reduziert sein.

CD42d (GPV); Veränderungen sind bislang noch nicht im Zusammenhang mit dem Bernard-Soulier-Syndrom beschrieben.

*Empfohlen werden folgende Antikörper gegen aktivierungsabhängig exprimierte Antigene [65, 66, 73]:*

*Messung nach Stimulation der Thrombozyten mit ADP, GPVI-Agonist (CRP-XL oder Convulxin, kein fibrilläres Kollagen wie bei der LTA verwenden), TRAP-6 (Thrombin-Rezeptor-Aktivator-Peptid; Sequenz: SFLLRN)*

CD62P                                  P-Selectin ( $\alpha$ -Granula)

CD63                                    GP-53 (erkennt sowohl lysosomale als auch  $\delta$ -Granula)

CD107a/b                              LAMP-1/2 (lysosomale Granula)

PAC-1                                  aktivierter GPIIb/IIIa Komplex-Fibrinogenrezeptor (Inside-out-signaling) gemessen durch den spezifischen IgM-Antikörper PAC-1

---

<sup>4</sup> Vereinfachte Klassifizierung in Typ I und Typ II

Fibrinogen-FITC/-Al488      indirekter Marker für aktivierter GPIIb/IIIa Komplex-Fibrinogenrezeptor (Inside-out-signaling)

### **Mepacrine-Assay**

Zur isolierten Untersuchung der  $\delta$ -Granula eignet sich der Mepacrine-Assay [74, 75]. Mepacrine ist ein fluoreszierendes Antibiotikum, das spezifisch in den  $\delta$ -Granula der Thrombozyten eingelagert wird. Nach Stimulation der Thrombozyten mit Agonisten und der Freisetzung aus den  $\delta$ -Granula nimmt auch die intrazelluläre Konzentration von Mepacrine wieder ab. Diese Abnahme kann durchflusszytometrisch (im FITC-Kanal) gemessen werden und ist somit ein Surrogat-Marker für die  $\delta$ -Granula. Viele Laboratorien verwenden Endpunkt-Messungen (unbeladen, beladen-unstimuliert, nach Zugabe des Agonisten); es sind aber auch kinetische Messungen möglich. Der Mepacrine-Assay ist darüber hinaus ein äußerst robuster Test und die einzige funktionelle Analyse, die auch noch 24 Stunden nach Blutentnahme und Versand erfolgen kann (siehe Kapitel 5 Präanalytik).

### **Agonisten für aktivierungsabhängige Marker**

Der Einsatz verschiedener Agonisten ermöglicht es, unterschiedliche Rezeptoren- bzw. deren Signalkaskade zu untersuchen. Die Verwendung unterschiedlicher (sub)optimaler Agonistenkonzentrationen erlaubt es außerdem, einen Schwellenwert der Thrombozytenreaktivität, insbesondere durch Dosisescalation zu bestimmen. Collagen-related peptide (CRP-X<sub>L</sub>) und Convulxin werden zunehmend als Kollagenrezeptor GPVI-Agonist verwendet, wobei hier eine Qualitätssicherung erforderlich ist, da die Potenz des Agonisten stark Chargen-abhängig ist. Die gleichzeitige Stimulation von Thrombozyten durch eine optimale Dosis ADP und U46619 sollte zu einer maximalen Aktivierung führen und dient somit als Positivkontrolle.

*Thrombin-Rezeptor-Aktivator-Peptid-6 (TRAP-6)*: Thrombinrezeptor-Stimulierbarkeit (suboptimale und optimale Dosis zur Beurteilung einer Voraktivierung), Formulierungsabhängige Titrierung wichtig!  
Vollblut: 10 - 100  $\mu$ M

*Adenosin-di-phosphat (ADP)*: ADP-Rezeptor-Stimulierbarkeit (suboptimale und optimale Dosis zur Beurteilung einer Voraktivierung): Vollblut: 2 - 10  $\mu$ M

*Crosslinked collagen-related peptide (CRP-XL)*; *Convulxin*: Kollagenrezeptor GPVI-Agonist, Chargen-abhängige Titrierung wichtig! Siehe unten angefügtes Beispielprotokoll.

*U46619*: Thromboxan-A<sub>2</sub>-Rezeptor-Agonist: Vollblut: 2  $\mu$ M

Limitierung:

- Bei schwer thrombozytopenen Patienten mit einer Thrombozytenkonzentration in den Vollblutproben  $< 10.000/\mu\text{l}$  können artifiziell pathologisch verminderte Thrombozytenaktivierungen resultieren, wenn sehr ADP-sensitive Agonisten bzw. niedrige Agonisten-Konzentrationen verwendet werden.

#### Rezeptordefekte des Thrombozyten:

Die Durchflusszytometrie ist eine sensitive Methode zur Detektion von selbst niedrig exprimierten Oberflächenrezeptoren. Sie eignet sich beispielsweise einerseits zur Detektion von hoch-abundanten funktionellen Thrombozytenrezeptoren (CD41a/CD61; CD42a-d; GPVI) bzw. zum Nachweis fehlender/reduzierter Expression von diesen. Andererseits lässt sich mittels Durchflusszytometrie die Expression des schwach exprimierten Stammzellsurrogatmarkers CD34 auf Thrombozyten untersuchen, dessen erhöhte Expression auf Defekte in megakaryozytären Transkriptionsfaktoren hinweist (z.B. GFI1b).

#### **Vorschlag für den rationalen Einsatz der Durchflusszytometrie für die Diagnostik von Thrombasthenie Glanzmann und Bernard-Soulier Syndrom (Citrat-Vollblutproben):**

##### Negativkontrolle:

IgG1-FITC / IgG1-PE (Antikörper mit gleicher Ig-Subklasse und unspezifischer Bindung)

##### Positivkontrolle:

CD42b<sup>5</sup>-FITC (Bernard-Soulier Syndrom) / CD41<sup>6</sup>-PE (Thrombasthenie Glanzmann)

##### Thrombasthenie Glanzmann:

- IgG1-FITC / IgG1-PE

- CD41-FITC oder CD41- FITC / CD61<sup>7</sup>-PE

+ FSC/SSC

---

<sup>5</sup> CD42b = Glykoprotein (GP) Iba

<sup>6</sup> CD 41 = GPIIb

<sup>7</sup> CD 61 = GPIIIa

- normale Oberflächenpräsentation von CD62P und CD63 nach Stimulation, insb. mit starken Agonisten
- keine (erhöhte) Bindung von Fibrinogen oder dem Fibrinogen simulierenden anti-GPIIb/IIIa Antikörper PAC-1 nach Stimulation mit ADP, Kollagenrezeptor GPVI-Agonisten, Thrombin-Rezeptor-Aktivator-Peptid-6 (TRAP-6)

#### Bernard-Soulier Syndrom:

- IgG1-FITC / IgG1-PE oder korrekte Isotypkontrolle
  - CD42a<sup>8</sup>-FITC / CD42b-PE / CD42c (optional)
- + FSC/SSC („Shift“ aufgrund veränderter Größe bzw. Granularität der Thrombozyten)

#### Storage-Pool-Erkrankungen [73]:

Storage-Pool-Erkrankungen sind in der Diagnostik komplex. Quantitative Storage-Pool-Defekte der  $\alpha$ -Granula werden durch die Detektion von CD62P auf der Thrombozytenoberfläche nach Aktivierung mit starken Agonisten des Kollagenrezeptors GPVI (CRP-XL oder Convulxin) und des Thrombinrezeptors PAR-1 (TRAP-6) untersucht. Analog werden  $\delta$ -Storage-Pool-Defekte durch die Oberflächenexpression von CD63 (CAVE: auch Membranmarker für Lysosomen) und der Freisetzung von Mepacrine (Endpunkt oder kinetisch) detektiert. Die Mepacrine-Beladung von unstimulierten Thrombozyten gibt in Kombination mit der CD63-Expression Hinweise auf quantitative oder qualitative Defekte der  $\delta$ -Granula. Zur Abgrenzung von Defekten der  $\delta$ -Granula und Lysosomen können Fluorochromgekoppelte Antikörper gegen LAMP-1 und LAMP-2 eingesetzt werden. Die Goldstandardtests für  $\delta$ -Storage-Pool-Defekte stellen die Luminoaggregometrie (siehe Kapitel 6.3 Luminometrische Bestimmung der ATP-Freisetzung) und die „Whole mount“ Transmissionselektronen-Mikroskopie dar. Obwohl der Mepacrine-Assay zur Unterscheidung von  $\delta$ -Granula Beladungs- bzw. Entladungs- (oder kombinierten) Defekten als sensitiver Test für eine  $\delta$ -Storage-Pool-Erkrankung teilweise kontrovers diskutiert wird [73, 76], ist dieser Test in dieser Leitlinie eindeutig empfohlen [77]. Er zeigt einen hohen negativen prädiktiven Wert zum Ausschluss einer  $\delta$ -SPD [74] und spielt bei thrombozytopenen PatientInnen eine wichtige Rolle, bei denen eine Luminometrie nicht durchgeführt werden kann. Eine laborinterne Standardisierung dieses Tests ist allerdings sehr wichtig. Bei PatientInnen mit Verdacht auf einen angeborenen  $\delta$ -SPD sollten Mehrfachtestungen durchgeführt werden, da dieser Defekt auch

---

<sup>8</sup> CD42a = GPIX



erworben (z.B. Medikamenten-induziert oder durch Voraktivierung der Plättchen *in vivo* und pre-analytisch) sein kann.

#### Defekte des prokoagulanten Zustands des Thrombozyten:

Angeborene Thrombozyten-Erkrankungen des  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen prokoagulanten Zustands (wichtig für die Thrombozyten-abhängige Amplifizierung der Thrombingenerierung und Gerinnung) können durch die Markierung von negativ-geladenen Phospholipiden (z.B. Phosphatidylserin) auf der Thrombozytenoberfläche im Puffer-verdünnten PRP mit Fluorochrom-markiertem Annexin-V detektiert werden. Entsprechende Kits für die Durchflusszytometrie sind kommerziell erhältlich. Beim *Scott-Syndrom* z.B. erhält man eine verminderte Annexin-V-Markierung nach Stimulierung mit starken Agonisten wie TRAP-6, GPVI-Agonisten oder in Kombination. Beim *Stormorken-Syndrom* beobachtet man basal schon eine verstärkte Annexin-V- und CD62P-Markierung. Ergänzende Analysen der Thrombozyten-abhängigen Thrombingenerierung (siehe Kapitel 9.1 Thrombozyten-abhängige Thrombingenerierung) dienen zur Validierung dieser Defekte. Da auch apoptotische Thrombozyten vermehrt Annexin-V binden, sollte zur Abgrenzung von z. B. erworbenen Störungen mit apoptotischen Thrombozyten zusätzlich eine Markierung von CD62P in Kombination mit einem thrombozytenspezifischen Marker (z.B. CD42a, CD41) erfolgen. Prokoagulante Thrombozyten erscheinen für alle drei Marker positiv. Apoptotische Thrombozyten erscheinen für Annexin-V und für den Thrombozytenmarker positiv aber negativ für CD62P [78].

Beispielprotokoll für eine allgemeine Rezeptoren- und Aktivierungsdiagnostik im Citrat-Vollblut aus der Arbeitsgruppe H. Schulze, Universitätsklinikum Würzburg (4 Farben), Mepacrine- und Annexin-V-Färbungen sollten separat erfolgen.

Tube	Antikörper				Agonist
	FITC	PE	PE-Cy5 / PerCP / Pacific Blue	APC	
#1	CD61	CD29	CD42a	CD42b	---
#2	CD49b	CD49e	CD49f	CD41a	---
#3	PAC-1	CD63	CD42a	CD62P	---
#4	---	---	CD42a	CD62P	2 $\mu\text{M}$ ADP
#5	PAC-1	CD63	CD42a	FMO*	5 $\mu\text{M}$ ADP

#6	PAC-1	FMO*	CD42a	CD62P	1 µM TRAP-6
#7	FMO*	CD63	CD42a	CD62P	5 µM TRAP-6
#8	PAC-1		CD42a	CD62P	2 µM U46619
#9	PAC-1		CD42a	CD62P	2 µM U46619 + 5 µM ADP
#10	PAC-1		CD42a	CD62P	0,01 µg/ml CRP

\* FMO: Bei Mehrfarbenmessung kann eine FMO (*Fluorescence-minus-one*) Kontrolle verwendet werden. Die Proben #4 und #6 beschreiben eine suboptimale Agonistenkonzentration, die Proben #5 und #7 jeweils eine optimale/ maximale Dosis. CRP = *Collagen-related peptide*.

#### 4. Auswertung, Beurteilung und Berichterstattung

Eine erste Interpretation der Durchflusszytometrie-Messung kann bereits unmittelbar am Gerät erfolgen, allerdings empfiehlt sich für eine detailliertere Analyse die Verwendung von Software, wie z.B. FlowJo, die für die Auswertung von durchflusszytometrischen Daten entwickelt wurde. Die Auswertung der Durchflusszytometrie-Daten erfolgt über die Angabe der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) im Vergleich zur adäquaten Isotyp- oder FMO-Kontrolle. Der MFI entspricht dem arithmetischen Mittel der Fluoreszenzintensität in jedem Kanal. Da diese logarithmisch zunimmt, wird das arithmetische Mittel schnell unbrauchbar, um eine Population von Ereignissen darzustellen, da Messwerte an beiden Enden des Histogramms zur Verzerrung des MFIs führen können. Die geometrische mittlere Fluoreszenzintensität (geoMFI) ist robuster gegenüber Ausreißern und ist neben dem Median die bevorzugte Wahl für die Beschreibung des MFI. Bei Aktivierungsparametern sollte zusätzlich der prozentuale Anteil Marker-positiver Thrombozyten angegeben und im Vergleich zu einer tagesaktuellen Gesundspender-Kontrolle bzw. laborinterner Referenzbereiche ausgewertet werden. Bei der Analyse von Oberflächenrezeptoren können auch Referenzbeads eingesetzt werden, um die absolute Rezeptor-Kopienzahl zu ermitteln. Bei Mehrfarben-Markierungen können Quadranten/Scatter-Plots für die Auswertung herangezogen werden [79, 80].

Für eine adäquate Interpretation der Messungen bietet es sich außerdem an, die altersabhängigen (insbesondere bei Kindern) [81, 82] Referenzwerte der Gesundspenderkohorte als Labor- und Gerätespezifischen Referenzbereich zu hinterlegen. Die Beurteilungen auch bezüglich Schweregrad der Erkrankung sollten laborintern standardisiert werden, wie z.B. Glanzmann-Heterozygotie (laborinterne und geräteabhängige 50 % Variabilität).

Der Befund sollte deskriptiv erfolgen ohne Angabe von Zahlenwerten.

## 5. Referenzbereiche, Standardisierung, Qualitätskontrolle

- Tagesaktuelle Gesundspender-Kontrolle oder eine mitgesendete Normalprobe („Reisekontrolle“) bei Probenversand.
- Laborinterne und altersabhängige Referenzbereiche erstellen (variable Konfidenzintervalle abhängig vom Agonisten und Agonisten-Konzentration beachten) [82-84].
- Qualitätssicherung des Durchflusszytometers durch Vorgaben des Herstellers [71].
- Messung der Thrombozytenkonzentration und -größe erfordert für die Interpretation der Messung gerätespezifische Referenzbereiche.
- Es ist erforderlich, dass Agonisten beim Gesundspender oder in einem analogen Aktivierungsassay (z.B. Aggregometrie) funktionieren.
- Externe Ringversuche aktuell nicht vorhanden, Etablierung von Ringversuchen durch Kommissionen der Fachgesellschaften geplant. Erschwert wird dies jedoch dadurch, dass die Blutentnahme möglichst im Zentrum erfolgen sollte.

## 6. Zukünftige Entwicklungen

Die Analyse von Thrombozyten-Subpopulationen mittels Mehrfarben-Markierung und Scatterplots könnte die Thrombozytenfunktionsdiagnostik sinnvoll erweitern [79, 80]. Die durchflusszytometrische Quantifizierung von Thrombozyten-Leukozyten-Aggregaten ist vielversprechend, um Auswirkungen von Thrombozytenfunktionsstörungen auf inflammatorische und immunologische Prozesse bzw. Erkrankungen der PatientInnen besser bewerten zu können.

### Handlungsempfehlungen 4: Durchflusszytometrie



- **Die Durchflusszytometrie soll zur Diagnose der Thrombasthenie Glanzmann, des Bernard-Soulier Syndrom und Storage-Pool-Erkrankungen verwendet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Zur Validierung soll die Durchflusszytometrie mit anderen spezialisierten Tests der Thrombozytenfunktionsanalyse kombiniert werden.**  
Konsensstärke: 81 %; Neu (2024)
- **Geräte- und methodenspezifische, laborinterne Referenzbereiche sollen erstellt und Messungen mit regelmäßigen Kontrollproben durchgeführt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)
- **Das Alter soll bei der Ergebnisbewertung berücksichtigt werden (insbesondere bei Kindern).**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)



- **Die Durchflusszytometrie sollte zur Charakterisierung heterozygoter Träger der Thrombasthenie Glanzmann und des Bernard-Soulier Syndroms verwendet werden.**  
Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)
- **Pathologische Durchflusszytometrie-Befunde sollten mit parallel-laufenden Kontrollproben bestätigt werden.**  
Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)
- **Die Durchflusszytometrie sollte deskriptiv interpretiert werden.**  
Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)

## 8. Immunfluoreszenzmikroskopie

Die Immunfluoreszenzmikroskopie (in Verbindung mit der Lichtmikroskopie) ist für die Diagnose einiger wichtiger angeborener Störungen der Thrombozyten an wenigen Zentren etabliert. Die Methode beruht auf dem Nachweis der charakteristischen Fehlverteilung von Granulainhaltsstoffen, Rezeptorproteinen und Bestandteilen des Zytoskeletts im Blutaussstrich [85-87].

### 1. Präanalytik

14 ungefärbte Blutausstriche (1 - 3 µl je Ausstrich) aus EDTA-Blut. Die Ausstriche sollen möglichst zeitnah (innerhalb von 4 h) nach der Blutentnahme angefertigt werden, um Artefakte zu vermeiden. Das EDTA-Blut sollte bis zum Ausstreichen bei Raumtemperatur gelagert werden. Die Ausstriche werden luftgetrocknet und können anschließend versendet werden. Zwei vor Ort gefärbte Ausstriche von Kontrollblut sollten immer mitversendet werden. Granulainhaltsstoffe werden durch Voraktivierung der Thrombozyten leicht vorzeitig ausgeschüttet. Daher ist im Falle eines pathologischen Ergebnisses eine Wiederholungsuntersuchung empfehlenswert.

### 2. Methodik

Die Blutausstriche werden vor dem Färben fixiert und permeabilisiert. Zur Fixierung werden in der Literatur eiskaltes Aceton (2 - 5 min), 1 - 3 % Paraformaldehyd (Raumtemperatur für 10 - 20 min) und Methanol (20 °C, 1 min) und 0,1 - 0,2 % Triton X-100 für 5 - 10 min beschrieben für die Permeabilisierung [85]. Nach der Fixierung und Permeabilisierung sollte normales Ziegen Serum oder fetales Rinderserum verwendet werden, um die unspezifische Bindung von Antikörpern zu blockieren. Die Zielstruktur kann entweder direkt mit einem fluoreszenzmarkierten Antikörper oder indirekt mit einem unmarkierten Antikörper und dann mit einem sekundären fluoreszenzmarkierten Antikörper angefärbt werden.

### 3. Zielstrukturen und Diagnosen

- Thrombozyten-Rezeptoren
- GPIb/IX (Bernard-Soulier Syndrom)

- GPIIb/IIIa (Thrombasthenie Glanzmann)
- Zytoskelettproteine
- Nicht-muskuläres Myosin IIa (z.B. MYH9-Makrothrombozytopenien)
- Filamin A (z.B. Filamin assoziierte Makrothrombozytopenie)
- $\beta$ 1-Tubulin (z.B.  $\beta$ 1-Tubulin assoziierte Makrothrombozytopenie)
- Actinin
- Granulainhaltsstoffe
- $\alpha$ -Granula Strukturen (von Willebrand Faktor, Thrombospondin, P-Selektin) (z.B. Gray-Platelet Syndrom)
- $\delta$ -Granula Strukturen (LAMP-1, LAMP-2, CD63) (Delta-Storage-Pool Defekte)
- CD34 (GFI1B-assoziierte Thrombozytopenie)

#### 4. Wertigkeit

Die Methode eignet sich insbesondere zur Diagnose der Gruppe der MYH9-Defekte, Bernard-Soulier Syndrom, Thrombasthenie Glanzmann und Gray-Platelet Syndrom.

#### Handlungsempfehlungen 5: Immunfluoreszenzmikroskopie

- |    |  |
|----|--|
| ↑↑ | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Das Anfertigen von Blutaussstrichen soll nur aus frischem EDTA-Blut (bei Raumtemperatur) erfolgen.</b><br/>Konsensstärke: 100 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Bei Durchführung der Färbung soll immer eine Kontrolle im Labor mitgeführt werden.</b><br/>Konsensstärke: 82 %; Neu (2024)</li></ul>   |
| ↑  | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Die Immunfluoreszenzmikroskopie sollte bei Verdacht auf MYH9-Defekte und Zytoskelettdefekte (<math>\beta</math>-Tubulin/<math>\alpha</math>-Tubulin und Filamin Defekte) verwendet werden.</b><br/>Konsensstärke: 79 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Die Immunfluoreszenzmikroskopie sollte in Ergänzung oder alternativ zur Durchflusszytometrie bei Verdacht auf Bernard-Soulier Syndrom, Thrombasthenie Glanzmann und Gray-Platelet Syndrom verwendet werden.</b><br/>Konsensstärke: 87 %; Neu (2024)</li></ul> |
| ↓  | <ul style="list-style-type: none"><li>➤ <b>Die Immunfluoreszenzmikroskopie ist eine ergänzende Methode, sie sollte nicht als alleiniger diagnostischer Test eingesetzt werden.</b><br/>Konsensstärke: 91 %; Neu (2024)</li><li>➤ <b>Bei Verdacht auf Granuladefekte sollte die Immunfluoreszenzmikroskopie bei Kindern &lt;1 Jahr wegen eingeschränkter Beurteilbarkeit (noch nicht vollständig ausgebildete Granula) nicht durchgeführt werden.</b><br/>Konsensstärke: 95 %; Neu (2024)</li></ul>   |

## 9. Spezialisierte Analysen zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik

### 9.1. Thrombozyten-abhängige Thrombingenerierung

Pathologische Veränderungen in der Thrombozyten-basierten Gerinnungskapazität werden funktionell durch semi-automatisierte Thrombingenerierungstests im plättchenreichen Plasma bzw. im Kontroll-Plasma mit gewaschenen oder gel-filtrierten Patienten-Thrombozyten detektiert [33, 88, 89]. Angeborene Defekte der Phosphatidylserin-Oberflächenpräsentation (z.B. Scott Syndrom, OMIM # 262890; Stormorken Syndrom, OMIM #185070) oder andere Störungen, die die Bindung von Gerinnungsfaktoren an aktivierte Thrombozyten betreffen, können durch diese Methode in Ergänzung mit durchflusszytometrischen Analysen zum prokoagulantem Zustand der Thrombozyten („COATED platelets“) diagnostiziert werden [90] (siehe Kapitel 7 Durchflusszytometrie). Prokoagulante COATED Thrombozyten entstehen durch Kostimulation mit Kollagen bzw. einem Kollagenrezeptor GPVI-Agonisten und Thrombin (Collagen And Thrombin) und werden durchflusszytometrisch neben der Detektion von Annexin-V (Oberflächenpräsentation von Phosphatidylserin) und P-Selektin (CD62P) durch weitere Parameter von granulär sezernierten und zurückgebundenen „Coat“-Molekülen, wie z.B. Serotonin, FV, von Willebrand Faktor und Thrombospondin-1, identifiziert und charakterisiert [89]. Die Detektion von Störungen in der Bildung von prokoagulantem „COATED“ Thrombozyten mittels Durchflusszytometrie und Thrombozyten-abhängiger Thrombingenerierung kann einen noch unbekanntem Anteil von PatientInnen mit „Bleeding Disorder of Unknown Cause“ (BDUC) erklären [91].

#### 1. Prinzip

Die Thrombozyten-abhängige Thrombinbildung („Thrombin Generation Assay“ [TGA], „Calibrated Automated Thrombography“ [CAT]) basiert auf der fluorimetrischen Quantifizierung des gebildeten Thrombins im zeitlichen Verlauf im rekalkifizierten plättchenreichen Plasma. Unter diesen Bedingungen wird die Thrombin-Bildung durch die Expression von Phosphatidylserin auf der Thrombozytenoberfläche unterstützt [31]. Letztere kann durch „Tissue-Faktor“ (TF) bzw. durch eine starke Aktivierung (z.B. mittels Ko-Stimulation mit Kollagen und Thrombin) der Thrombozyten erreicht werden [92]. Eine TF- und FXII-unabhängige Thrombinbildung auf Thrombozyten kann durch deren Aktivierung im plättchenreichen Plasma mittels Stimulierung des Kollagen-Rezeptors GPVI und Hemmung des FXII-Weges durch Corn-Trypsin-Inhibitor (CTI) induziert werden. Dazu eignen sich die direkten GPVI Agonisten Convulxin [93] und „crosslinked collagen-related peptide“ (CRP-XL) [94]. Das am häufigsten verwendete Kollagen, Horm-Collagen, aktiviert die Thrombozyten zusätzlich über CD36 [95].

Die interindividuelle Varianz der Ergebnisse der Thrombinbildungsmessung ist ohne TF größer, als mit TF, da interindividuelle Variationen der Thrombozyten hierbei physiologisch bedingt stärker einfließen. Die Exposition von Phosphatidylserin auf den Thrombozyten ist eine notwendige Voraussetzung für

die Thrombinbildung, aber nicht hinreichend. So spielen Thrombozyten-abhängige Parameter, wie GPIIb [96], Proteindisulfid-Isomerase (PDI) [33, 97], Freisetzung von Polyphosphat aus den  $\delta$ -Granula [98], CD36 [99], die Fähigkeit „COATed“ Thrombozyten zu bilden [90, 100] und vermutlich noch weitere bisher unbekannt Variablen eine große Rolle.

Die Thrombozyten-abhängige Thrombinbildung, ausgelöst durch Kontakt mit Kollagen, ist für die Aufgabe der Thrombozyten als Wächter des Endothels zu fungieren und bei Infektionen oder sterilen Entzündungen entstandene Lücken zwischen Endothelzellen zu schließen, welche durch Leukozyteneinwanderung hervorgerufen wurden, und damit kleine, aber stetige Blutungen zu schließen, von besonderer Bedeutung [101, 102].

## 2. Präanalytik [103, 104]

Patient, Blutgewinnung und Probentransport siehe Kapitel 5 Präanalytik.

Die Blutproben sollen nicht versendet werden, siehe Probenvorbereitung.

### **Probenvorbereitung:**

- Gewinnung von plättchreichem und plättchenarmen Plasma analog zur LTA.
- Die Probenmessung sollte zeitnah nach der Blutentnahme innerhalb einer Stunde beginnen, da einige beeinflussende Faktoren der Thrombozyten im Plasma nur eine kurze Halbwertszeit haben (z.B. Polyphosphate).

## 3. Methodik und Auswertung

- Einstellen der Thrombozyten-Konzentration im PRP durch PPP auf 150.000/ $\mu$ l; bei thrombozytopenischen Proben, Kontrollproben mit derselben verminderten Thrombozytenkonzentration parallel auf derselben Platte messen.
- Pipettieren der Plasmen und Reagenzien inklusive „Tissue-Faktor“ Reagenz (Endkonzentration 1  $\mu$ M) in 96-well Platten (U-bottom) in Duplikaten oder Triplikaten entsprechend der Herstellerangaben.
- Alternativ ohne TF aber Aktivierung der Thrombozyten mit GPVI Agonist [105].
- Als weitere Alternativmöglichkeit, speziell um den „thrombin burst“ auf Thrombozyten zu untersuchen, ist die Aktivierung der Thrombozyten mit einer geringfügigen Konzentration an Thrombin möglich [33, 96, 97].
- Die Thrombingenerierung auf „COATed“ Thrombozyten wird durch die simultane Stimulation der Thrombozyten mit Kollagen bzw. einen GPVI Agonisten plus Thrombin untersucht [89].
- Die Bildung von Thrombin wird durch automatisches Pipettieren des fluorogenen Thrombin-Substrats plus  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen gestartet.

- Die Spaltung des Substrats durch Thrombin führt zu einer zeitabhängigen Erhöhung der Fluoreszenz, Antithrombin und  $\alpha$ 2-Macroglobulin inhibieren die Thrombinaktivität, sodass die Fluoreszenz zeitversetzt wieder sinkt.
- Das gebildete Thrombin wird als Konzentration in nM durch zusätzlich standardisierte Thrombin-Kalibrator-Proben automatisch berechnet.
- Die Kinetik der Thrombinbildung wird mittels der gerätespezifischen Software als „Thrombogramm“ dargestellt und die wichtigen Parameter Latenzphase (lag-time [min]), Zeit bis zum maximalen Thrombinpeak (time to peak [min]), Thrombinpeak [nM], initiale Thrombinbildungsrate (velocity index [nM/min]) und endogenes Thrombinpotenzial (ETP [nM\*min]) ausgewertet.
- Duplikate/Triplikate sollten als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegeben werden.
- Um Defekte und Einflüsse von Plasmafaktoren bei der Thrombozyten-abhängigen Thrombinbildung zu detektieren, sollte parallel auf derselben Platte die Thrombinbildung im PPP (spezielles Reagenz vom Hersteller) quantifiziert werden.

#### 4. Referenzbereiche, Standardisierung [103, 104]

- Da sowohl die Werte zwischen verschiedenen Laboren als auch interindividuell schwanken, sollten laborinterne altersabhängige Referenzbereiche bestimmt werden.
- Intra-Assay CV  $\leq$  10 %
- Referenzwerte für die Thrombin Dynamik im PRP gibt Yan et al. 2021 [106].

## 10. Molekulargenetische Methoden

### 1. Indikation und Anwendbarkeit

Die molekulargenetische Untersuchung bei angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten kann bei eindeutiger Verdachtsdiagnose (wie z.B. bei V.a. Thrombasthenie Glanzmann oder Bernard-Soulier-Syndrom) unmittelbar durchgeführt werden. Wenn dies nicht der Fall ist, sollte zunächst eine technisch unabhängige, labordiagnostische Analyse erfolgen.

Zur weiteren Abklärung kann die molekulargenetische Diagnostik bei Nachweis einer oder mehrerer krankheitsverursachender Varianten die Verdachtsdiagnose einer angeborenen Störung der Thrombozyten sichern und leistet somit einen wichtigen Beitrag zur Diagnose. Zudem können Familienmitglieder im Rahmen einer vorhersagenden (prädiktiven) Analyse, durch den Nachweis oder den Ausschluss der familienspezifischen Variante(n), ihren Anlageträgerstatus bestimmen lassen (Heterozygotendiagnostik).



## 2. Methoden der Gendiagnostik

Die molekulargenetische Untersuchung kann mittels Sanger-Sequenzierung oder *Next Generation Sequencing* (NGS) erfolgen. Da mittels Sanger-Sequenzierung technisch pro Sequenzierlauf jeweils nur ein Exon analysiert werden kann, ist hier Voraussetzung, dass konkrete Kandidatengene für die Erkrankung bekannt sind (wie z.B. beim Wiskott-Aldrich Syndrom). Die Sanger-Sequenzierung eignet sich daher für die gezielte Diagnostik von Einzelgenen bzw. Einzel-Varianten.

Die molekulargenetische Diagnose von Erkrankungen, die eine aufwendige und zeitintensive Sequenzierung von großen oder viele Genen voraussetzen würden (z.B. Bernard-Soulier Syndrom, Thrombasthenie Glanzmann, Hermansky-Pudlack Syndrom), eignen sich hingegen besonders für die Untersuchung mittels NGS. Es ist sinnvoll, ein aktualisiertes Genpanel mit funktionell ähnlichen Genen zu erstellen, das Gene gruppiert, die Membran- oder Zytoskeletdefekte von Thrombozyten assoziiert sind und eine nachgewiesene Funktion bei der Biogenese oder der Funktion von Thrombozyten haben (auch als Tier-1- oder „Core“-Gene bezeichnet) [107]. Bei gegebener Indikation können diese Panels durch An- bzw. Abwählen einzelner Gene individualisiert werden. Eine aktualisierte Liste aller relevanten Gene ist unter [https://www.isth.org/page/GinTh\\_GeneLists](https://www.isth.org/page/GinTh_GeneLists) (Link zuletzt abgerufen am 22.03.24) zu finden.

Ein fehlender Mutationsnachweis schließt die Verdachtsdiagnose einer angeborenen Erkrankung der Thrombozyten nicht aus, weil im Rahmen der molekulargenetischen Routinediagnostik mittels *Whole Exome Sequencing* und digitalem *Filtering* in der Regel nur die kodierenden Sequenzen untersucht werden. Die Analyse beschränkt sich daher oft auf Exone sowie Exon-Intron- und Intron-Exon-Übergänge. Generell ist eine ausreichende Abdeckung in Exon 1 sowie generell bei G/C-reichen DNA-Sequenzen technisch schwierig zu erreichen. In solchen Fällen kann eine Nachsequenzierung mit der Sanger-Methode notwendig sein. Dies ist auf dem Befund spezifisch auszuweisen.

## 3. Präanalytische Anforderungen und Qualitätskontrolle

Für die DNA-Isolation reichen minimale Vollblutmengen aus (weniger als 1 mL), bzw. Zellen, die durch einen Wangenabstrich gewonnen werden kann.

Die Qualitätskontrolle orientiert sich an den aktuellen Empfehlungen des *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) und der europäischen Leitlinie für diagnostische Hochdurchsatzsequenzierungen [108-110]. Für die Einordnung genetischer Varianten wird eine standardisierte Terminologie empfohlen: „pathogene Variante“ (class V), „wahrscheinlich pathogene Variante“ (class IV), „Variante unklarer klinischer Bedeutung“ (*variant of uncertain clinical significance*,

VUS, UV, UCV) (class III), „wahrscheinlich neutrale Variante“ (class II) sowie „neutrale (benigne) Variante“ (class I).

#### 4. Rechtliche Rahmenbedingungen

Die rechtlichen Rahmenbedingungen einer genetischen Analyse zu medizinischen Zwecken werden durch das Gendiagnostik-Gesetz (GenDG) definiert. In Einklang mit diesem darf eine genetische Probe gewonnen und eine genetische Diagnostik nur durchgeführt werden, wenn die betroffene Person in beidem (Probengewinnung und Analyse) ausdrücklich und schriftlich eingewilligt hat (§8 GenDG). Darüber hinaus ist die betroffene Person umfassend über Wesen, Bedeutung und Tragweite einer Genanalyse aufzuklären (§9 GenDG), insbesondere über die Detektion sog. *unsolicited findings*, also beispielsweise Varianten in Genen, die mit einem erhöhten Risiko für eine maligne Erkrankung einhergehen (*RUNX1, ANKRD26, ETV6* usw.). Hervorzuheben ist, dass grundsätzlich das Recht auf „Nicht-Wissen“ gilt. Einen besonderen Stellenwert hat darüber hinaus, dass eine rein prädiktive Diagnostik von für den klinischen Phänotyp nicht-relevanter Gene (wie z.B. *BRCA1*) bei minderjährigen Kindern - auch in Familien mit betroffenen Patienten - unzulässig ist, insbesondere wenn es sich um spät-manifestierende Erkrankungen handelt (S2k-Leitlinie Humangenetische Diagnostik und Genetische Beratung; [https://register.awmf.org/assets/guidelines/078-015l\\_S2k\\_Humangenetische\\_Diagnostik\\_Genetische\\_Beratung\\_2019-08.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/078-015l_S2k_Humangenetische_Diagnostik_Genetische_Beratung_2019-08.pdf)).

#### 5. Auswertung, Interpretation und Berichterstattung

##### Bewertung von genetischen Varianten:

Die Auswertung und Interpretation von molekulargenetischen Ergebnisse sollte durch Institutionen mit Sachkenntnis in humangenetischer Beratung erfolgen (z.B. Institute für Humangenetik, Praxen für humangenetische Beratung etc.) und ggf. durch interdisziplinäre Fallkonferenzen im Rahmen von Board-Meetings unterstützt werden. Eine fachgebundene genetische Beratung ist als Qualifikation auch möglich.

Für den Fall, dass eine detektierte Variante als wahrscheinlich krankheitsverursachend eingestuft wurde, sollte dieser Nachweis durch Co-Segregationsanalyse gesichert werden, entweder in drei unabhängigen Fällen oder einem ausgedehnten Stammbaum (mindestens drei Generationen). Weitere Belege für die Kategorisierung einer Variante können aus Tiermodellen (Maus, Zebrafisch usw.), zell- bzw. molekularbiologischen Experimenten oder ggf. durch *in silico* Verfahren zum Vergleich von Aminosäuresequenzen gezogen werden. Zur weiteren Einordnung einer Variante unklarer Signifikanz (VUS) können funktionelle Studien in Zellkultur- und Tiermodellen sowie

Segregationsanalysen der Variante unter Einbeziehung betroffener und nicht-betroffener Familienmitgliedern ggf. hilfreich sein [111, 112].

Verschiedene Datenbanken zum Abgleich und zur Validierung verschiedener Varianten werden regelmäßig aktualisiert. Empfohlene Referenz-Datenbanken sind:

- ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)
- ExAc (<http://exac.broadinstitute.org>)
- gnomAD (<http://gnomad.broadinstitute.org>)
- dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>)
- "Datenbank der 1000 Genome" (IGSR) (<http://www.internationalgenome.org>)
- Hemostasis/Thrombosis Gene Curation Expert Panel (<https://clinicalgenome.org/affiliation/40028/>)

#### **Bericht und Mitteilung der Ergebnisse an die verantwortliche ärztliche Person:**

Für diagnostische Zwecke sollten bei Betroffenen und ihren Familien nur Varianten in Genen mit einem bekannten Zusammenhang zwischen pathogenen Veränderungen und entsprechendem Phänotyp beurteilt werden, jedoch keine neutralen oder wahrscheinlich neutralen Varianten [113]. So sollen bereits in Datenbanken hinterlegte Varianten der Klasse 4 und 5 im genetischen Befund mitgeteilt werden. Sollte die genetische Analyse zur Identifikation einer (noch) nicht publizierten Variante führen, die bisher z.B. nur im Tierversuch untersucht wurde oder die (experimentellen bzw. klinischen) Informationen über die Pathogenität einer Variante im Allgemeinen begrenzt sein, wird diese als Klasse 3 Variante unklarer Signifikanz eingestuft werden. Es wird nicht empfohlen, Varianten der Klasse 3 in Befunden mitzuteilen, um die Assoziation einer Variante unklarer Signifikanz mit dem individuellen Phänotyp zu vermeiden. Klasse 2 bzw. 1 Varianten werden typischerweise nicht in Datenbanken gelistet, so dass ein (*Non*)-*Reporting Bias* bestehen kann.

#### **Weitergabe der Ergebnisse an Familienmitglieder:**

Eine prädiktive genetische Diagnostik erfordert immer eine genetische Beratung. Weiterhin darf das Ergebnis einer genetischen Analyse nur der betroffenen Person und nur durch die verantwortliche ärztliche Person mitgeteilt werden, die die genetische Beratung durchgeführt hat. Die Weitergabe des Ergebnisses darf nur mit ausdrücklicher und schriftlicher Einwilligung der betroffenen Person erfolgen.

#### **Webpages:**

Informationen zu den gesetzlichen Grundlagen zur molekulargenetischen Untersuchungen sind für Deutschland unter [www.gesetze-im-internet.de](http://www.gesetze-im-internet.de) (<http://www.gesetze-im->

internet.de/gendg/GenDG.pdf), Österreich unter [www.ris.bka.gv.at](http://www.ris.bka.gv.at) (<https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung.wxe?Abfrage=Bundesnormen&Gesetzesnummer=10010826>) und die Schweiz unter (Humanforschungsgesetz, HFG) [www.admin.ch/gov/de/start.html#diagnostik](http://www.admin.ch/gov/de/start.html#diagnostik) (<https://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20061313/index.html>) einzusehen.

## Handlungsempfehlungen 6: Molekulargenetische Methoden

- ↑↑
  - **Die Molekulargenetik soll zur Diagnose von angeborenen Störungen der Thrombozyten verwendet werden.**  
Konsensstärke: 95 %; Neu (2024)
  - **Zur Identifikation heterozygoter Träger von angeborenen Störungen der Thrombozyten soll die Molekulargenetik verwendet werden.**  
Konsensstärke: 78 %; Neu (2024)
- ↑
  - **Für die molekulargenetische Untersuchung sollten relevante Gene (aus klinisch-diagnostischen sowie auch aus wirtschaftlichen Gründen) gruppiert untersucht werden.**  
Konsensstärke: 87 %; Neu (2024)
  - **Nicht-konklusive (kausale) molekulargenetische Ergebnisse sollten zu einem späteren Zeitpunkt, entsprechend dem aktuellen Kenntnisstand, wiederholt werden.**  
Konsensstärke: 90 %; Neu (2024)

## 11. Zukünftige Entwicklungen

Für die Diagnostik von angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten zeichnen sich neue Entwicklungen ab, die das Potenzial haben, die Patientenversorgung erheblich zu verbessern. Ein zentraler Aspekt ist die gerade begonnene Etablierung des **ThromKidplus Patienten-Registers** (Stand: 2024), das eine umfassende Datensammlung und -analyse ermöglichen wird.

Die Qualitätssicherung in der Diagnostik, insbesondere bei der LTA und der Durchflusszytometrie, wird durch regelmäßige **Ringversuche**, die von der **ThromKidplus** Arbeitsgruppe initiiert und durchgeführt werden, gestärkt. Diese Versuche optimieren die Standardisierung und Zuverlässigkeit der Testverfahren in den sich beteiligenden Zentren. Dies ist essenziell für die Klassifizierung und korrekte Diagnosestellung von angeborenen Erkrankungen der Thrombozyten.

Technologische Fortschritte in der Mikroskopie, wie **die konfokale Mikroskopie, die inverse Fluoreszenzmikroskopie und super-hochauflösende Mikroskopie**, eröffnen neue Dimensionen in der

Untersuchung der Thrombozytenmorphologie und -funktion. Diese Verfahren ermöglichen eine detaillierte Visualisierung auf zellulärer und molekularer Ebene und tragen zu einem tieferen Verständnis der Pathophysiologie bei.

Die **Durchflusszytometrie** erfährt eine breitere Anwendung für die umfassende Phänotypisierung von Thrombozyten und für innovative Funktionstests. Diese Entwicklungen verbessern die Charakterisierung der Thrombozytenfunktion und tragen zur präzisen Diagnose von Thrombozytopathien bei.

Der Einsatz von **Mikro- und Makrofluidkammern /-geräten**, insbesondere der miniaturisierten Lab-on-a-Chip-Technologie, revolutioniert die Untersuchung der Thrombozytenfunktion. Diese Technologie ermöglicht präzise und effiziente Analysen auf kleinstem Raum und unter physiologischen Bedingungen.

**Genomisches Profiling** durch Next-Generation-Sequencing hilft bei der Identifizierung von genetischen Mutationen, die Thrombozytenzahl und -funktionen beeinflussen. Diese genetische Diagnostik ist fundamental für die personalisierte Medizin und ermöglicht eine zielgerichtete Behandlung.

Das Zusammenspiel von **integrativer Omik und künstlicher Intelligenz/ maschinellem Lernen** eröffnet neue Perspektiven. Biomarker-Panels mit Multi-Omik-Integration, die genetische, transkriptionelle, proteinbasierte und metabolische Daten vereinen, verbessern die diagnostische Präzision. Die Anwendung von Algorithmen steigert nicht nur die Genauigkeit bei der Datenanalyse, sondern unterstützt auch prädiktive Modelle, die das Patientenmanagement optimieren und personalisieren.

Zusammenfassend verspricht die Zukunft der Diagnostik von angeborenen Störungen der Thrombozyten einen multidisziplinären und technologiegetriebenen Ansatz, der eine präzisere, individualisierte und effizientere Patientenversorgung ermöglicht.

**Anhang****Tabelle 10: Arzneimittelentwicklung:** Potenzielle zukünftige Medikamente zur Hemmung der Thrombozytenfunktion in Phase 3-Zulassungsstudien [21, 22].

<b>Wirkstoff</b>	<b>Angriffspunkt</b>	<b>Applikationsart Halbwertszeit</b>
<b>SELATOGREL</b>	P2Y12 ADP-Rezeptor	s.c.  Stabile Plättchen P2Y12 Hemmung über ≥ 8 h
<b>PZ-128</b>	Cytoplasmatischer Bereich von PAR-1	i.v.,  1h 20 min - 1h 40min
<b>BMS-986120</b>	PAR-4	oral  45 h und 84 h für 3 mg bzw. 180 mg
<b>BMS-986141</b>	PAR-4	oral
<b>RUC-4, ZALUNFIBAN</b>	GPIIb/IIIa, Metallion-bindende Domäne des β3 Integrins	oral
<b>REVACEPT</b>	GPVI, Kollagen-Rezeptor, Dimere lösliche Form von GPVI	i.v.
<b>GLENZOCIMAB</b>	GPVI, Kollagen-Rezeptor Humanisiertes AK Fragment	i.v.
<b>ARC1779</b>	VWF-GPIb Komplex, Aptamer Antagonist der A1 Domäne des von Willebrand Faktors	i.v.
<b>ANFIBATIDE</b>	VWF-GPIb Komplex Schlangengift Antagonist von GPIb	i.v.
<b>AZD6482</b>	PI3Kbeta Phosphoinositide 3-Kinase Inhibitor	i.v.
<b>SILMITASERTIB</b>	Casein Kinase 2 (CK2) Serin/Threonin-spezifische Proteinkinase	oral
<b>EVOBRUTINIB</b>	BTK Tyrosine Kinase Inhibierung; GPVI-vermittelte Thrombozytenaktivierung	oral

<b>REMIBRUTINIB</b>	BTK Tyrosine Kinase Inhibierung; GPVI-vermittelte Thrombozytenaktivierung	oral
<b>SILDENAFIL</b>	PDE5, verstärkt die cGMP-anhebenden und anti-aggregatorischen Effekte von NO freisetzenden Medikamenten wie Iloprost und PGE1	oral
<b>RIOCIGUAT</b>	GC-cAMP, Guanylyl Cyclase Stimulator	oral
<b>ISOQUERCITIN</b>	PDI, Flavonoid, welches die Substrat-bindende Tasche der Protein Disulfid Isomerase blockiert	oral

## Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung (ggf. deutsche Übersetzung)
µg	Mikrogramm
µM	mikromolar
AA	Arachidonsäure
ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ADP	Adenosindiphosphat
ANKRD26	Ankyrin repeat domain-containing protein 26
APC	Allophycocyanin
ARC	Arthrogryposis multiplex congenita
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BAT	Bleeding Assessment Tool; Anamnesebogen zur Beurteilung der Blutungsneigung
BRCA1	BReast Cancer Gene 1
BSA	Bovines Serumalbumin
BSS	Bernard-Soulier-Syndrom
BTk	Bruton-Tyrosinkinase
CaIDAG-GEFI	Ca <sup>2+</sup> - and diacylglycerol-regulated guanine nucleotide exchange factor I
cAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
CAT	Calibrated Automated Thrombography
CD	Cluster of Differentiation
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
CK2	Casein Kinase 2
COX-1	Cyclogenase-1
CRP	Collagen-related peptide
CRP-XL	Crosslinked collagen-related peptide
CTI	Corn-Trypsin-Inhibitor
CV	Coefficient of Variability
d.h.	das heißt
DGIM	Deutsche Gesellschaft für Innere Medizin
DGKJ	Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin
DGTI	Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin
DHG	Deutsche Hämophiliegesellschaft
DIAPH1	Diaphanous homolog 1
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELMI	Elektronenmikroskopie
ETP	Edogenes Thrombinpotenzial
ETV6	ETS Variant Transcription Factor 6
Fc	Fragment crystallisable; konstante Region eines Antikörpers
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FMO	Fluorescence-minus-one
FSC	Forward Scatter; vorwärts gestreutes Licht
g	Beschleunigungsgröße der Zentrifuge



---

<b>GenDG</b>	Gendiagnostik-Gesetz
<b>geoMFI</b>	geometrische mittlere Fluoreszenzintensität
<b>ggf.</b>	gegebenenfalls
<b>GP</b>	Glykoprotein
<b>GPOH</b>	Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie
<b>GTH</b>	Gesellschaft für Thrombose- und Hämostaseforschung
<b>GTP</b>	Guanosintriphosphat
<b>h</b>	Stunde
<b>HMG-CoA</b>	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A
<b>i.v.</b>	intravenös
<b>IA</b>	Impedanzaggregometrie
<b>Ig</b>	Immunglobulin
<b>IPD</b>	Inherited platelet disorder; angeborene Thrombozytenstörung
<b>IPF</b>	immature platelet fraction; unreife/immature Plättchenfraktion
<b>ISTH</b>	International Society on Thrombosis and Haemostasis
<b>KG</b>	Körpergewicht
<b>l</b>	Liter
<b>LAD-III</b>	Leukozytenadhäsionsdefekt Typ III
<b>LLR</b>	Luciferin-Luciferase-Reagenz
<b>LMWH</b>	Niedermolekulares Heparin
<b>LTA</b>	Lichttransmissionsaggregometrie
<b>MFI</b>	Mittlere Fluoreszenzintensität
<b>mg</b>	Milligramm
<b>min</b>	Minute(n)
<b>ml</b>	Milliliter
<b>MPV</b>	mean platelet volume; Mittleres Thrombozytenvolumen
<b>MYH9</b>	Myosin, heavy chain 9
<b>NaCl</b>	Natriumchlorid
<b>NGS</b>	Next Generation Sequencing
<b>NO</b>	Stickstoffmonoxid
<b>NSAR</b>	Nichtsteroidale Antirheumatika
<b>ÖGIM</b>	Österreichische Gesellschaft für Innere Medizin
<b>ÖGKJ</b>	Österreichische Gesellschaft für Kinder- und Jugendheilkunde
<b>ÖGLMKC</b>	Österreichische Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin und Klinische Chemie
<b>OMIM</b>	Online Mendelian Inheritance in Man
<b>PAC-1</b>	Procaspase activating compound 1
<b>PAR</b>	Protease-aktivierter Rezeptor
<b>PBAC</b>	Pictoral Blood Assessment Chart
<b>PBS</b>	Phosphatgepufferte Salzlösung
<b>PDE</b>	Phosphodiesterase
<b>PDI</b>	Proteindisulfid-Isomerase
<b>PE</b>	Phycoerythrin
<b>PGE<sub>1</sub></b>	Prostaglandin E <sub>1</sub>
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostaglandin I <sub>2</sub> , Prostazyklin
<b>PPP</b>	Plättchenarmes Plasma
<b>PRP</b>	Plättchenreiches Plasma
<b>QPD</b>	Québec-Thrombozytenstörung

---

---

<b>RUNX1</b>	Runt-related transcription factor 1
<b>s.c.</b>	subkutan
<b>sGC</b>	Lösliche Guanylatzyklase
<b>SPD</b>	Storage pool disease
<b>SSC</b>	Side Scatter; Seitwärtsstreulicht
<b>SSRI</b>	Serotonin Reuptake Inhibitors (Serotonin-Wiederaufnahmehemmer)
<b>STAT</b>	Signal Transducers and Activators of Transcription
<b>TAR</b>	Thrombocytopenia-Absent Radius
<b>TF</b>	Tissue-Factor
<b>TGA</b>	Thrombin Generation Assay
<b>t-PA</b>	Gewebespezifischer Plasminogenaktivator
<b>TRAP-6</b>	Thrombin Receptor Activator Peptide 6
<b>TXA<sub>2</sub></b>	Thromboxan A <sub>2</sub>
<b>UFH</b>	Unfraktioniertes Heparin
<b>VUS</b>	variant of uncertain clinical significance
<b>VWD</b>	Von-Willebrand Erkrankung
<b>VWF</b>	Von-Willebrand-Faktor
<b>WAS</b>	Wiskott-Aldrich-Syndrom
<b>WBA</b>	Whole Blood Aggegometry
<b>WHO</b>	World Health Organisation

---

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Federführende und koordinierende LeitlinienautorInnen. ....	8
Tabelle 2: LeitlinienautorInnen der Version 2018.....	8
Tabelle 3: Leitlinienautoren der Aktualisierung 2024 .....	11
Tabelle 4: Interessenskonfliktmanagement Konkretisierung laut AWMF Kommission Leitlinien. ....	15
Tabelle 5: TeilnehmerInnen der drei Leitliniengruppentreffen und der beiden Konsensuskonferenzen, die im Rahmen der Leitlinienaktualisierung stattgefunden haben.....	18
Tabelle 6: Feststellung der Konsensstärke .....	19
Tabelle 7: Dreistufiges Schema zur Graduierung von Handlungsempfehlungen.....	20
Tabelle 8: Auswahl derzeitig verfügbarer Thrombozytenfunktionshemmer (Anti platelet drugs).....	26
Tabelle 9: Andere Medikamente, Röntgenkontrastmittel und Nahrungsmittel mit möglichem Einfluss auf die Thrombozytenfunktion.....	27
Tabelle 10: Arzneimittelentwicklung: Potenzielle zukünftige Medikamente zur Hemmung der Thrombozytenfunktion in Phase 3-Zulassungsstudien .....	69

### **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Diagnosealgorithmus zur Unterstützung einer rationalen Herangehensweise bei Blutungsneigung und Verdacht auf eine angeborene Erkrankung der Thrombozyten .....	23
Abbildung 2: Übersicht von wichtigen Testmethoden zur Diagnose von Störungen der Thrombozyten-Aktivierung .....	32

### **Verzeichnis der Handlungsempfehlungen**

Handlungsempfehlungen 1: Diagnosealgorithmus .....	34
Handlungsempfehlungen 2: Präanalytik .....	37
Handlungsempfehlungen 3: Aggregometrie .....	48
Handlungsempfehlungen 4: Durchflusszytometrie.....	58
Handlungsempfehlungen 5: Immunfluoreszenzmikroskopie .....	60
Handlungsempfehlungen 6: Molekulargenetische Methoden .....	67

## Literatur

1. Wiedmeier SE, Henry E, Sola-Visner MC, Christensen RD: **Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47,000 patients in a multihospital healthcare system.** *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association* 2009, **29**(2):130-136.
2. Bidlingmaier C, Grote V, Budde U, Olivieri M, Kurnik K: **Prospective evaluation of a pediatric bleeding questionnaire and the ISTH bleeding assessment tool in children and parents in routine clinical practice.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2012, **10**(7):1335-1341.
3. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Collier B, James P, Neunert C, Lillicrap D: **ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010, **8**(9):2063-2065.
4. Pecci A, Balduini CL: **Inherited thrombocytopenias: an updated guide for clinicians.** *Blood reviews* 2021, **48**:100784.
5. Bury L, Falcinelli E, Gresele P: **Learning the Ropes of Platelet Count Regulation: Inherited Thrombocytopenias.** *Journal of clinical medicine* 2021, **10**(3).
6. Nurden AT, Nurden P: **Inherited thrombocytopenias: history, advances and perspectives.** *Haematologica* 2020, **105**(8):2004-2019.
7. Dovlatova N: **Current status and future prospects for platelet function testing in the diagnosis of inherited bleeding disorders.** *British journal of haematology* 2015, **170**(2):150-161.
8. Zieger B, Boeckelmann D: **Inherited Platelet Disorders: A Short Introduction.** *Hamostaseologie* 2023, **43**(1):52-59.
9. Palma-Barqueros V, Revilla N, Sánchez A, Zamora Cánovas A, Rodríguez-Alén A, Marín-Quílez A, González-Porrás JR, Vicente V, Lozano ML, Bastida JM, Rivera J: **Inherited Platelet Disorders: An Updated Overview.** *International journal of molecular sciences* 2021, **22**(9).
10. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW: **The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia.** *Blood* 2016, **127**(20):2391-2405.
11. Bourguignon A, Tasneem S, Hayward CP: **Screening and diagnosis of inherited platelet disorders.** *Critical reviews in clinical laboratory sciences* 2022, **59**(6):405-444.
12. Moenen F, Nelemans PJ, Schols SEM, Schouten HC, Henskens YMC, Beckers EAM: **The diagnostic accuracy of bleeding assessment tools for the identification of patients with mild bleeding disorders: A systematic review.** *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia* 2018, **24**(4):525-535.
13. Gresele P: **Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2015, **13**(2):314-322.
14. Rashid A, Moiz B, Karim F, Shaikh MS, Mansoori H, Raheem A: **Use of ISTH bleeding assessment tool to predict inherited platelet dysfunction in resource constrained settings.** *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 2016, **76**(5):373-378.
15. Revel-Vilk S, Richter C, Ben-Ami T, Yacobovich J, Aviner S, Ben-Barak A, Kuperman AA, Ben-Barak S, Kaplinsky C, Miskin H, Tamary H, Kenet G: **Quantitation of bleeding symptoms in a national registry of patients with inherited platelet disorders.** *Blood cells, molecules & diseases* 2017, **67**:59-62.
16. Gresele P, Orsini S, Noris P, Falcinelli E, Alessi MC, Bury L, Borhany M, Santoro C, Glembotsky AC, Cid AR, Tosetto A, De Candia E, Fontana P, Guglielmini G, Pecci A: **Validation of the ISTH/SSC bleeding assessment tool for inherited platelet disorders: A communication from the Platelet Physiology SSC.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2020, **18**(3):732-739.
17. Alhaj D, Hagedorn N, Cuntz F, Reschke M, Schuldes J, Ruthenberg J, Bakchoul T, Greinacher A, Holzhauser S: **ISTH bleeding assessment tool and platelet function analyzer in children with mild inherited platelet function disorders.** *European journal of haematology* 2024.

18. Magnay JL, O'Brien S, Gerlinger C, Seitz C: **Pictorial methods to assess heavy menstrual bleeding in research and clinical practice: a systematic literature review.** *BMC women's health* 2020, **20**(1):24.
19. George JN, Shattil SJ: **The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function.** *The New England journal of medicine* 1991, **324**(1):27-39.
20. Scharf RE: **Drugs that affect platelet function.** *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2012, **38**(8):865-883.
21. Gawaz M, Geisler T, Borst O: **Current concepts and novel targets for antiplatelet therapy.** *Nature reviews Cardiology* 2023, **20**(9):583-599.
22. Jourdi G, Lordkipanidzé M, Philippe A, Bachelot-Loza C, Gaussem P: **Current and Novel Antiplatelet Therapies for the Treatment of Cardiovascular Diseases.** *International journal of molecular sciences* 2021, **22**(23).
23. Bakchoul T, Marini I: **Drug-associated thrombocytopenia.** *Hematology American Society of Hematology Education Program* 2018, **2018**(1):576-583.
24. Laporte S, Chapelle C, Caillet P, Beyens MN, Bellet F, Delavenne X, Mismetti P, Bertoletti L: **Bleeding risk under selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) antidepressants: A meta-analysis of observational studies.** *Pharmacological research* 2017, **118**:19-32.
25. von Hundelshausen P, Siess W: **Bleeding by Bruton Tyrosine Kinase-Inhibitors: Dependency on Drug Type and Disease.** *Cancers* 2021, **13**(5).
26. Schädlich D, Friebel D, Schallner J, Gehrlich S, Siegert G, Kuhlisch E, Knöfler R: **[Evaluation of haemostasis in children treated with valproic acid].** *Hamostaseologie* 2010, **30** Suppl 1:S132-137.
27. Fixter K, Rabbolini DJ, Valecha B, Morel-Kopp MC, Gabrielli S, Chen Q, Stevenson WS, Ward CM: **Mean platelet diameter measurements to classify inherited thrombocytopenias.** *International journal of laboratory hematology* 2017.
28. Ferreira FLB, Colella MP, Medina SS, Costa-Lima C, Fiusa MML, Costa LNG, Orsi FA, Annichino-Bizzacchi JM, Fertrin KY, Gilberti MFP, Ozelo MC, De Paula EV: **Evaluation of the immature platelet fraction contribute to the differential diagnosis of hereditary, immune and other acquired thrombocytopenias.** *Scientific reports* 2017, **7**(1):3355.
29. Miyazaki K, Koike Y, Kunishima S, Ishii R, Danbara M, Horie R, Yatomi Y, Higashihara M: **Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia.** *Hematology (Amsterdam, Netherlands)* 2015, **20**(10):587-592.
30. Mani H, Wolf Z, Lindhoff-Last E: **[Progress in diagnostic evaluation of platelet function disorders].** *Hamostaseologie* 2010, **30**(4):217-229.
31. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, Regnault V, de Smed E, Wagenvoord R, Lecompte T, Béguin S: **The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability.** *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis* 2002, **32**(5-6):249-253.
32. Wielders SJ, Broers J, ten Cate H, Collins PW, Bevers EM, Lindhout T: **Absence of platelet-dependent fibrin formation in a patient with Scott syndrome.** *Thromb Haemost* 2009, **102**(1):76-82.
33. Jurk K, Lahav J, Van Aken H, Brodde MF, Nofer JR, Kehrel BE: **Extracellular protein disulfide isomerase regulates feedback activation of platelet thrombin generation via modulation of coagulation factor binding.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2011, **9**(11):2278-2290.
34. Li D, Shao L, Chen BC, Zhang X, Zhang M, Moses B, Milkie DE, Beach JR, Hammer JA, 3rd, Pasham M, Kirchhausen T, Baird MA, Davidson MW, Xu P, Betzig E: **ADVANCED IMAGING. Extended-resolution structured illumination imaging of endocytic and cytoskeletal dynamics.** *Science (New York, NY)* 2015, **349**(6251):aab3500.
35. Xu P, Deng H, Hong Z, Zhong S, Chen F, Wang L, Wang Z, Mei Y, Luo Z, He Z, Li H, Gan C, Zhang H, Ma Y, Han Z, Zhang YH: **Superresolution Fluorescence Microscopy of Platelet Subcellular Structures as a Potential Tumor Liquid Biopsy.** *Small methods* 2023, **7**(10):e2300445.

36. Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK: **Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2006, **4**(2):312-319.
37. Favalaro EJ: **Clinical utility of closure times using the platelet function analyzer-100/200.** *American journal of hematology* 2017, **92**(4):398-404.
38. Moenen F, Vries MJA, Nelemans PJ, van Rooy KJM, Vranken J, Verhezen PWM, Wetzels RJH, Ten Cate H, Schouten HC, Beckers EAM, Henskens YMC: **Screening for platelet function disorders with Multiplate and platelet function analyzer.** *Platelets* 2017:1-7.
39. Hoffmann JJ: **Reference range of mean platelet volume.** *Thrombosis research* 2012, **129**(4):534-535.
40. Born GV, Cross MJ: **THE AGGREGATION OF BLOOD PLATELETS.** *The Journal of physiology* 1963, **168**(1):178-195.
41. Clayton S, Born GV, Cross MJ: **INHIBITION OF THE AGGREGATION OF BLOOD PLATELETS BY NUCLEOSIDES.** *Nature* 1963, **200**:138-139.
42. Born GV, Hume M: **Effects of the numbers and sizes of platelet aggregates on the optical density of plasma.** *Nature* 1967, **215**(5105):1027-1029.
43. Gebetsberger J, Prüller F: **Classic Light Transmission Platelet Aggregometry: Do We Still Need it?** *Hamostaseologie* 2023.
44. Hardy M, Lessire S, Kasikci S, Baudar J, Guldenpfennig M, Collard A, Dogné JM, Chatelain B, Jacqmin H, Lecompte T, Mullier F: **Effects of Time-Interval since Blood Draw and of Anticoagulation on Platelet Testing (Count, Indices and Impedance Aggregometry): A Systematic Study with Blood from Healthy Volunteers.** *Journal of clinical medicine* 2020, **9**(8).
45. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, Hayward CP, Kenny D, Nugent D, Nurden P, Rao AK, Schmaier AH, Watson SP, Lussana F, Pugliano MT, Michelson AD: **Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2013.
46. Althaus K, Zieger B, Bakchoul T, Jurk K: **Standardization of Light Transmission Aggregometry for Diagnosis of Platelet Disorders: An Inter-Laboratory External Quality Assessment.** *Thrombosis and haemostasis* 2019, **119**(7):1154-1161.
47. Alessi MC, Coxon C, Ibrahim-Kosta M, Bacci M, Voisin S, Rivera J, Greinacher A, Raster J, Pulcinelli F, Devreese KMJ, Mullier F, McCormick AN, Frontroth JP, Pouplard C, Sachs UJ, Diaz I, Bermejo N, Camera M, Fontana P, Bauters A, Stepanian A, Cozzi MR, Sveshnikova AN, Faille D, Hollon W, Chitlur M, Casonato A, Lasne D, Lavenu-Bombled C, Fiore M, Hamidou B, Hurtaud-Roux MF, Saultier P, Goumidi L, Gressele P, Lordkipanidzé M: **Multicenter evaluation of light transmission platelet aggregation reagents: communication from the ISTH SSC Subcommittee on Platelet Physiology.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2023, **21**(9):2596-2610.
48. Gomez K, Anderson J, Baker P, Biss T, Jennings I, Lowe G, Platton S: **Clinical and laboratory diagnosis of heritable platelet disorders in adults and children: a British Society for Haematology Guideline.** *British journal of haematology* 2021, **195**(1):46-72.
49. Munnix ICA, Van Oerle R, Verhezen P, Kuijper P, Hackeng CM, Hopman-Kerkhoff HIJ, Hudig F, Van De Kerkhof D, Leyte A, De Maat MPM, Oude Elferink RFM, Ruinemans-Koerts J, Schoorl M, Slomp J, Soons H, Stroobants A, Van Wijk E, Henskens YMC: **Harmonizing light transmission aggregometry in the Netherlands by implementation of the SSC-ISTH guideline.** *Platelets* 2021, **32**(4):516-523.
50. Dawood BB, Lowe GC, Lordkipanidzé M, Bem D, Daly ME, Makris M, Mumford A, Wilde JT, Watson SP: **Evaluation of participants with suspected heritable platelet function disorders including recommendation and validation of a streamlined agonist panel.** *Blood* 2012, **120**(25):5041-5049.
51. Kaiser T, Liebscher K, Scholz U, Pfrepper C, Netto J, Drogies T, Tiebel O, Knöfler R, Krause M: **Influencing Factors and Differences in Born Aggregometry in Specialized Hemostaseological**



- Centers: Results of a Multicenter Laboratory Comparison.** *TH open : companion journal to thrombosis and haemostasis* 2022, **6**(3):e213-e220.
52. Knofler R, Eberl W, Schulze H, Bakchoul T, Bergmann F, Gehrisch S, Geisen C, Gottstein S, Halimeh S, Harbrecht U, Kappert G, Kirchmaier C, Kehrel B, Losche W, Krause M, Mahnel R, Meyer O, Pilgrimm AK, Pillitteri D, Rott H, Santoso S, Siegemund A, Schambeck C, Scheer M, Schmutz M, Scholl T, Strauss G, Zieger B, Zott R, Hermann M, Streif W: **[Diagnosis of inherited diseases of platelet function. Interdisciplinary S2K guideline of the Permanent Paediatric Committee of the Society of Thrombosis and Haemostasis Research (GTH e. V.)].** *Hamostaseologie* 2014, **34**(3):201-212.
  53. Hayward CP, Moffat KA, Raby A, Israels S, Plumhoff E, Flynn G, Zehnder JL: **Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry.** *American journal of clinical pathology* 2010, **134**(6):955-963.
  54. Hayward CPM, Moffat KA, Brunet J, Carlino SA, Plumhoff E, Meijer P, Zehnder JL: **Update on diagnostic testing for platelet function disorders: What is practical and useful?** *International journal of laboratory hematology* 2019, **41** Suppl 1:26-32.
  55. Alessi MC, Sié P, Payrastre B: **Strengths and Weaknesses of Light Transmission Aggregometry in Diagnosing Hereditary Platelet Function Disorders.** *Journal of clinical medicine* 2020, **9**(3).
  56. Halimeh S, Angelis G, Sander A, Edelbusch C, Rott H, Thedieck S, Mesters R, Schlegel N, Nowak-Göttl U: **Multiplate whole blood impedance point of care aggregometry: preliminary reference values in healthy infants, children and adolescents.** *Klinische Padiatrie* 2010, **222**(3):158-163.
  57. Al Ghaithi R, Drake S, Watson SP, Morgan NV, Harrison P: **Comparison of multiple electrode aggregometry with lumi-aggregometry for the diagnosis of patients with mild bleeding disorders.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2017, **15**(10):2045-2052.
  58. Le Blanc J, Mullier F, Vayne C, Lordkipanidzé M: **Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond.** *Journal of clinical medicine* 2020, **9**(8).
  59. Rubak P, Skipper MT, Larsen OH, Hvas AM: **Continuous exploration of parameters derived from multiple electrode platelet aggregometry is warranted.** *Thrombosis research* 2018, **164**:45-47.
  60. Fritsma GA, McGlasson DL: **Whole Blood Platelet Aggregometry.** *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)* 2017, **1646**:333-347.
  61. Lundin A, Richardsson A, Thore A: **Continuous monitoring of ATP-converting reactions by purified firefly luciferase.** *Analytical biochemistry* 1976, **75**(2):611-620.
  62. Knofler R, Weissbach G, Kuhlisch E: **Platelet function tests in childhood. Measuring aggregation and release reaction in whole blood.** *Seminars in thrombosis and hemostasis* 1998, **24**(6):513-521.
  63. Tanaka M, Kawahito K, Adachi H, Ino T: **Platelet dysfunction in acute type A aortic dissection evaluated by the laser light-scattering method.** *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2003, **126**(3):837-841.
  64. Ramström S, Södergren AL, Tynngård N, Lindahl TL: **Platelet Function Determined by Flow Cytometry: New Perspectives?** *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2016, **42**(3):268-281.
  65. Frelinger AL, 3rd, Rivera J, Connor DE, Freson K, Greinacher A, Harrison P, Kunishima S, Lordkipanidzé M, Michelson AD, Ramström S, Gesele P: **Consensus recommendations on flow cytometry for the assessment of inherited and acquired disorders of platelet number and function: Communication from the ISTH SSC Subcommittee on Platelet Physiology.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2021, **19**(12):3193-3202.
  66. Jurk K, Shiravand Y: **Platelet Phenotyping and Function Testing in Thrombocytopenia.** *Journal of clinical medicine* 2021, **10**(5).
  67. Jourdi G, Ramström S, Sharma R, Bakchoul T, Lordkipanidzé M: **Consensus report on flow cytometry for platelet function testing in thrombocytopenic patients: communication from the SSC of the ISTH.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2023, **21**(10):2941-2952.



68. van Asten I, Schutgens REG, Baaij M, Zandstra J, Roest M, Pasterkamp G, Huisman A, Korporaal SJA, Urbanus RT: **Validation of flow cytometric analysis of platelet function in patients with a suspected platelet function defect.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2018, **16**(4):689-698.
69. Navred K, Martin M, Ekdahl L, Zetterberg E, Andersson NG, Strandberg K, Norstrom E: **A simplified flow cytometric method for detection of inherited platelet disorders-A comparison to the gold standard light transmission aggregometry.** *PloS one* 2019, **14**(1):e0211130.
70. Huskens D, Li L, Florin L, de Kesel P, de Laat B, Roest M, Devreese KMJ: **Flow cytometric analysis of platelet function to improve the recognition of thrombocytopathy.** *Thrombosis research* 2020, **194**:183-189.
71. Spurgeon BEJ, Naseem KM: **Platelet Flow Cytometry: Instrument Setup, Controls, and Panel Performance.** *Cytometry Part B, Clinical cytometry* 2020, **98**(1):19-27.
72. Andres O, Henning K, Strauß G, Pflug A, Manukjan G, Schulze H: **Diagnosis of platelet function disorders: A standardized, rational, and modular flow cytometric approach.** *Platelets* 2018, **29**(4):347-356.
73. Mezzano D, Harrison P, Frelinger AL, 3rd, Mumford AD, Noris P, Lordkipanidzé M, Gresele P: **Expert opinion on the use of platelet secretion assay for the diagnosis of inherited platelet function disorders: Communication from the ISTH SSC Subcommittee on Platelet Physiology.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2022, **20**(9):2127-2135.
74. Cai H, Mullier F, Frotscher B, Briquel ME, Toussaint M, Massin F, Lecompte T, Latger-Cannard V: **Usefulness of Flow Cytometric Mepacrine Uptake/Release Combined with CD63 Assay in Diagnosis of Patients with Suspected Platelet Dense Granule Disorder.** *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2016, **42**(3):282-291.
75. Andres O, Henning K, Strauss G, Pflug A, Manukjan G, Schulze H: **Diagnosis of platelet function disorders: A standardized, rational, and modular flow cytometric approach.** *Platelets* 2017:1-10.
76. van Asten I, Blaauwgeers M, Granneman L, Heijnen HFG, Kruij M, Beckers EAM, Coppens M, Eikenboom J, Tamminga RYJ, Pasterkamp G, Huisman A, van Galen KPM, Korporaal SJA, Schutgens REG, Urbanus RT: **Flow cytometric mepacrine fluorescence can be used for the exclusion of platelet dense granule deficiency.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2020, **18**(3):706-713.
77. Manukjan G, Eilenberger J, Andres O, Schambeck C, Eber S, Schulze H: **Functional Classification of Paediatric Patients with Non-syndromic Delta-Storage Pool Deficiency.** *Hamostaseologie* 2019, **39**(4):383-391.
78. Josefsson EC, Ramström S, Thaler J, Lordkipanidzé M: **Consensus report on markers to distinguish procoagulant platelets from apoptotic platelets: communication from the Scientific and Standardization Committee of the ISTH.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2023, **21**(8):2291-2299.
79. Veninga A, Baaten C, De Simone I, Tullemans BME, Kuijpers MJE, Heemskerk JWM, van der Meijden PEJ: **Effects of Platelet Agonists and Priming on the Formation of Platelet Populations.** *Thrombosis and haemostasis* 2022, **122**(5):726-738.
80. Weiss LJ, Drayss M, Manukjan G, Zeitlhöfler M, Kleiss J, Weigel M, Herrmann J, Mott K, Beck S, Burkard P, Lâm TT, Althaus K, Bakchoul T, Frantz S, Meybohm P, Nieswandt B, Weismann D, Schulze H: **Uncoupling of platelet granule release and integrin activation suggests GPIIb/IIIa as a therapeutic target in COVID-19.** *Blood advances* 2023, **7**(11):2324-2338.
81. Hézard N, Potron G, Schlegel N, Amory C, Leroux B, Nguyen P: **Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: a flow cytometric study in neonates, infants and older children.** *Thrombosis and haemostasis* 2003, **90**(1):116-123.
82. Weiss LJ, Drayss M, Mott K, Beck S, Unsin D, Just B, Speer CP, Härtel C, Andres O, Schulze H: **Ontogenesis of functional platelet subpopulations from preterm and term neonates to adulthood: The PLINIUS study.** *Blood advances* 2023, **7**(16):4334-4348.

83. Huskens D, Sang Y, Konings J, van der Vorm L, de Laat B, Kelchtermans H, Roest M: **Standardization and reference ranges for whole blood platelet function measurements using a flow cytometric platelet activation test.** *PLoS one* 2018, **13**(2):e0192079.
84. Herken K, Glauner M, Robert SC, Maas M, Zippel S, Nowak-Göttl U, Zieger B, Lahav J, Fender AC, Jurk K, Kehrel BE: **Age-Dependent Control of Collagen-Dependent Platelet Responses by Thrombospondin-1-Comparative Analysis of Platelets from Neonates, Children, Adolescents, and Adults.** *International journal of molecular sciences* 2021, **22**(9).
85. Greinacher A, Pecci A, Kunishima S, Althaus K, Nurden P, Balduini CL, Bakchoul T: **Diagnosis of inherited platelet disorders on a blood smear: a tool to facilitate worldwide diagnosis of platelet disorders.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2017, **15**(7):1511-1521.
86. Zaninetti C, Leinøe E, Lozano ML, Rossing M, Bastida JM, Zetterberg E, Rivera J, Greinacher A: **Validation of immunofluorescence analysis of blood smears in patients with inherited platelet disorders.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2023, **21**(4):1010-1019.
87. Zaninetti C, Greinacher A: **Diagnosis of Inherited Platelet Disorders on a Blood Smear.** *Journal of clinical medicine* 2020, **9**(2).
88. Wan J, Konings J, de Laat B, Hackeng TM, Roest M: **Added Value of Blood Cells in Thrombin Generation Testing.** *Thrombosis and haemostasis* 2021, **121**(12):1574-1587.
89. Colucci G, Stutz M, Rochat S, Conte T, Pavicic M, Reusser M, Giabbani E, Huynh A, Thürlemann C, Keller P, Alberio L: **The effect of desmopressin on platelet function: a selective enhancement of procoagulant COAT platelets in patients with primary platelet function defects.** *Blood* 2014, **123**(12):1905-1916.
90. Aliotta A, Bertaggia Calderara D, Zermatten MG, Marchetti M, Alberio L: **Thrombocytopathies: Not Just Aggregation Defects-The Clinical Relevance of Procoagulant Platelets.** *Journal of clinical medicine* 2021, **10**(5).
91. Segot A, Adler M, Aliotta A, Matthey-Guirao E, Nagler M, Bertaggia Calderara D, Grandoni F, Gomez FJ, Alberio L: **Low COAT platelets are frequent in patients with bleeding disorders of unknown cause (BDUC) and can be enhanced by DDAVP.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2022, **20**(5):1271-1274.
92. Alberio L, Safa O, Clemetson KJ, Esmon CT, Dale GL: **Surface expression and functional characterization of alpha-granule factor V in human platelets: effects of ionophore A23187, thrombin, collagen, and convulxin.** *Blood* 2000, **95**(5):1694-1702.
93. Polgár J, Clemetson JM, Kehrel BE, Wiedemann M, Magnenat EM, Wells TN, Clemetson KJ: **Platelet activation and signal transduction by convulxin, a C-type lectin from *Crotalus durissus terrificus* (tropical rattlesnake) venom via the p62/GPVI collagen receptor.** *The Journal of biological chemistry* 1997, **272**(21):13576-13583.
94. Kehrel B, Wierwille S, Clemetson KJ, Anders O, Steiner M, Knight CG, Farndale RW, Okuma M, Barnes MJ: **Glycoprotein VI is a major collagen receptor for platelet activation: it recognizes the platelet-activating quaternary structure of collagen, whereas CD36, glycoprotein IIb/IIIa, and von Willebrand factor do not.** *Blood* 1998, **91**(2):491-499.
95. Tandon NN, Kralisz U, Jamieson GA: **Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion.** *The Journal of biological chemistry* 1989, **264**(13):7576-7583.
96. Dörmann D, Clemetson KJ, Kehrel BE: **The GPIb thrombin-binding site is essential for thrombin-induced platelet procoagulant activity.** *Blood* 2000, **96**(7):2469-2478.
97. Stopa JD, Neuberg D, Puligandla M, Furie B, Flaumenhaft R, Zwicker JI: **Protein disulfide isomerase inhibition blocks thrombin generation in humans by interfering with platelet factor V activation.** *JCI insight* 2017, **2**(1):e89373.
98. Choi SH, Smith SA, Morrissey JH: **Polyphosphate is a cofactor for the activation of factor XI by thrombin.** *Blood* 2011, **118**(26):6963-6970.
99. Dörmann M, Makhoul S, Gross K, Krause M, Pillitteri D, von Auer C, Walter U, Lutz J, Volf I, Kehrel BE, Jurk K: **CD36-fibrin interaction propagates FXI-dependent thrombin generation of**

- human platelets.** *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2020, **34**(7):9337-9357.
100. Veuthey L, Aliotta A, Bertaglia Calderara D, Pereira Portela C, Alberio L: **Mechanisms Underlying Dichotomous Procoagulant COAT Platelet Generation-A Conceptual Review Summarizing Current Knowledge.** *International journal of molecular sciences* 2022, **23**(5).
101. Kaiser R, Escaig R, Kranich J, Hoffknecht ML, Anjum A, Polewka V, Mader M, Hu W, Belz L, Gold C, Titova A, Lorenz M, Pekayvaz K, Käab S, Gaertner F, Stark K, Brocker T, Massberg S, Nicolai L: **Procoagulant platelet sentinels prevent inflammatory bleeding through GPIIB/IIIa and GPVI.** *Blood* 2022, **140**(2):121-139.
102. Kaiser R, Escaig R, Nicolai L: **Hemostasis without clot formation: how platelets guard the vasculature in inflammation, infection, and malignancy.** *Blood* 2023, **142**(17):1413-1425.
103. **Towards a recommendation for the standardization of the measurement of platelet-dependent thrombin generation.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2011, **9**(9):1859-1861.
104. Ninivaggi M, de Laat-Kremers R, Tripodi A, Wahl D, Zuily S, Dargaud Y, Ten Cate H, Ignjatović V, Devreese KJM, de Laat B: **Recommendations for the measurement of thrombin generation: Communication from the ISTH SSC Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2021, **19**(5):1372-1378.
105. Li L, Roest M, Meijers JCM, de Laat B, Urbanus RT, de Groot PG, Huskens D: **Platelet Activation via Glycoprotein VI Initiates Thrombin Generation: A Potential Role for Platelet-Derived Factor IX?** *Thrombosis and haemostasis* 2022, **122**(9):1502-1512.
106. Yan Q, Ninivaggi M, de Laat B, de Laat-Kremers RMW: **Reference values for thrombin dynamics in platelet rich plasma.** *Platelets* 2021, **32**(2):251-258.
107. Agrawal U, Bedston S, McCowan C, Oke J, Patterson L, Robertson C, Akbari A, Azcoaga-Lorenzo A, Bradley DT, Fagbamigbe AF, Grange Z, Hall ECR, Joy M, Katikireddi SV, Kerr S, Ritchie L, Murphy S, Owen RK, Rudan I, Shah SA, Simpson CR, Torabi F, Tsang RSM, de Lusignan S, Lyons RA, O'Reilly D, Sheikh A: **Severe COVID-19 outcomes after full vaccination of primary schedule and initial boosters: pooled analysis of national prospective cohort studies of 30 million individuals in England, Northern Ireland, Scotland, and Wales.** *Lancet (London, England)* 2022, **400**(10360):1305-1320.
108. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL: **Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology.** *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 2015, **17**(5):405-424.
109. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, Race V, Sistermans E, Sturm M, Weiss M, Yntema H, Bakker E, Scheffer H, Bauer P: **Guidelines for diagnostic next-generation sequencing.** *European journal of human genetics : EJHG* 2016, **24**(10):1515.
110. Nurden AT, Nurden P: **High-throughput sequencing for rapid diagnosis of inherited platelet disorders: a case for a European consensus.** *Haematologica* 2018, **103**(1):6-8.
111. Freson K, Turro E: **High-throughput sequencing approaches for diagnosing hereditary bleeding and platelet disorders.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2017, **15**(7):1262-1272.
112. Andres O, König EM, Althaus K, Bakchoul T, Bugert P, Eber S, Knöfler R, Kunstmann E, Manukjan G, Meyer O, Strauß G, Streif W, Thiele T, Wiegering V, Klopocki E, Schulze H: **Use of Targeted High-Throughput Sequencing for Genetic Classification of Patients with Bleeding Diathesis and Suspected Platelet Disorder.** *TH open : companion journal to thrombosis and haemostasis* 2018, **2**(4):e445-e454.
113. **Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik e.V. (GfH) zu genetischen Zusatzbefunden in Diagnostik und Forschung vom 28.5.2013.** *medgen* 2013, **25**:284-286.

## Erklärung über Interessenskonflikte

Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien  
Registernr: 086-003

	<b>ALBERIO Lorenzo</b>	<b>ALTHAUS Karina</b>	<b>ANDRES Oliver</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	Werfen CSL Behring Biotest SOBI Sanofi Werfen Novartis Mylan Pharma Viatris OM Pharma Pfizer	nein	Werfen
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	Bayer SOBI Novo Nordisk	SOBI	KH Hannover
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	Springer
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	Bayer	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied FAMH	Mitglied DGTI, DGI, ISTH	Mitglied BDDH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: geringer Interessenskonflikt aufgrund thematischer Relevanz bei Vortrags-/Schulungstätigkeiten Konsequenz: keine Leitungsfunktion	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
 Registernr: 086-003

	<b>BAKCHOUL Tamam</b>	<b>BALLMAIER Matthias</b>	<b>BERGMANN Frauke</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	Terumo BCT Europe N.V. Sozialgericht Mainz	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	SOBI	nein	Werfen
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	DGTI ISTH  Novo Nordisk Leo Pharma SOBI Mitsubishi Tanabe Meet the Experts Academy UG CSL Behring Streamed Up! GmbH Stiftung Zürcher Blutspendedienst	nein	KH Hannover
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	Thieme DRK „Hämotherapie“	nein	Springer
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	DFG DGTI DRK Universitätsklinikum Tübingen	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	Herstellung kaltgelagerte Thrombozyten Durchflusszytometrie HIT - Diagnostik	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied DGTI, GTH, EHA, ISTH, BDDH, ASH	nein	Mitglied BDDH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: moderater Interessenskonflikt aufgrund thematischer Relevanz Konsequenz: Stimmenthaltung bei Handlungsempfehlungen „Durchflusszytometrie“	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

## Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien

Registernr: 086-003

	<b>BEUTEL Karin</b>	<b>BIRSCHMANN Ingvild</b>	<b>BÖCKELMANN Doris</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	CSL Behring Alexion	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	nein	CSL Behring BMS LFB Siemens FH Münster Octapharma Uni Dresden CGCM Klinikum Dortmund	nein
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	Astrid Dickow Stiftung	Siemens Behnk Elektronik CSL Behring Octapharma	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied DGKJ, GPOH, GTH, DGPI, Histiocyte Society, ECHO	Mitglied DGKL, GTH, DGTI	Mitglied GTH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: geringer Interessenskonflikt aufgrund thematischer Relevanz bei Vortrags-/Schulungstätigkeiten Konsequenz: keine Leitungsfunktion	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
**Registernr: 086-003**

	<b>CARIO Holger</b>	<b>DAME Christof</b>	<b>EBERL Wolfgang</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	BMS	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	Vertex Pfizer Agios	nein	Bayer
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	GBT Chiesi ApoCare Vertex	nein	Sobi CSL Behring RG-Ärztefortbildung
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	Chiesi Thieme	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GPOH	Mitglied GNPI	Mitglied GTH, GPOH, DGKJ, BDDH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
 Registernr: 086-003

	<b>GEBETSBERGER Jennifer</b>	<b>GEBHART Johanna</b>	<b>HOLZHAUER Susanne</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	SOBI CSL Behring	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	SOBI CSL Behring Novartis Amgen	BIOMARIN Sobi Bayer Böhringer Ingelheim
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	SOBI	CSL Behring SOBI Novartis Amgen	Bristol Myer Scribbs Roche Chugai
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	CSL Behring Pfizer	Roche/Chugai
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	CSL Behring SOBI Novartis Amgen Takeda	Agios Sobi Böhringer Ingelheim Pfizer Roche Daiichi
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GTH	Mitglied GTH, ISTH, ÖGIM	Mitglied GPOH, GTH, ISTH, EHA
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.



**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
**Registernr: 086-003**

	<b>HÜTKER Sebastian</b>	<b>JURK Kerstin</b>	<b>KEHREL Beate</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	DFG Commission of the European Communities FWO GIF SNF OeNB AIRC MRC NCN HCERES
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	nein	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	Biotest SOBI Novo Nordisk CSL Behring Bayer	Novo Nordisk	Chugai Pfizer Takeda
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	Papan	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GPOH, GTH, DGKJ, BVKJ	Mitglied GTH, ISTH	Mitglied GTH, DGHO
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
**Registernr: 086-003**

	<b>KNÖFLER Ralf</b>	<b>KRAMMER-STEINER Beate</b>	<b>KRAUSE Manuela</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	DKG	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	nein	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	BFSH Novo Nordisk	nein	BFSG StreamedUP GmbH
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GTH	Mitglied DGHO, GTH, DKG, DGP, ÄK-MV/KV, DGI, BDDH, MV Onkologiekommission	Mitglied GTH, DGIM
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
**Registernr: 086-003**

	<b>KRAUSE Michael</b>	<b>MEYER Oliver</b>	<b>MOTT Kristina</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	Pfizer	Novartis Amgen SOBI Sanofi Argenx Arbeitskreis Blut am Robert-Koch-Institut	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	GTH	Berufsverband Deutscher Internisinnen und Internisten Novartis SOBI ONKO Internetportal Grifols	nein
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	Novartis	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	Novartis	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GTH, DGAI, DGM	Mitglied DGTI, BDT, DGHO, ASH	nein
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
 Registernr: 086-003

	<b>OLIVIERI Martin</b>	<b>PAVLOVA Anna</b>	<b>PRÜLLER Florian</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	CSL Behring Biotest Bayer Biomarin Takeda Roche Novo Nordisk Sobi Pfizer Octapharma	nein	Pentapharm
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	CSL Behring Biotest Bayer Biomarin Takeda Roche Novo Nordisk Sobi Pfizer Octapharma DHR	nein	Novo Nordisk
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	CSL Behring Biotest Bayer Takeda Roche Novo Nordisk Sobi Pfizer Octapharma STAGO	nein	FH-Joanneum GTH ÖGLMKC
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	CSL Behring Roche	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	Förderung für Forschung und Lehre Friedrich Bauer Stiftung	nein	Greiner Bio-One
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied DGKJ, GTH, DSG, GRC, DIVI, DHG, DHR	nein	Mitglied ÖGLMKC
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

## Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien

Registernr: 086-003

	<b>SCHULZE Harald</b>	<b>SIEGEMUND Annelie</b>	<b>STRAUSS Gabriele</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	nein	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	nein	Novo Nordisk Sobi	nein
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	Sobi, Novo Nordisk, Roche, Siemens	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied ASH, GTH, EHA, ISTH, SSCs, Expert Panel ClinGen	nein	Mitglied GPOH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine Thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
**Registernr: 086-003**

	<b>STREIF Werner</b>	<b>TIEBEL Oliver</b>	<b>WIEGERING Verena</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	Clarcert	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	GTH ÖHG  Bayer Takeda	nein	HRA Pharma
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	Shire Novo Nordisk Takeda Sobi Biotest Roche	STAGO SYSMEX Siemens Werfen Carus	HRA Pharma
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	Thieme Verlag Universimed	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	Sobi Biotest Octapharma Takeda Pfizer Roche	nein	nein
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GTH, OHG, ÖGKJ	Mitglied DGKL	nein
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

## Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien

Registernr: 086-003

	<b>WIELAND Ivonne</b>	<b>ZANINETTI Carlo</b>	<b>ZIEGER Barbara</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	SOBI Roche/Chugai CSL Takeda	nein	Takeda
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	nein	nein	nein
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	Roche/Chugai SOBI Takeda	nein	CSL Behring Takeda
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Mitglied GTH, GPOH, DGKJ, DHG	Mitglied GTH, DGTI, ISTH, EHA	Mitglied GTH, ASH, DGKJ, ISTH
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Leitlinie: Diagnose von Thrombozytenfunktionsstörungen - Thrombozytopathien**  
Registernr: 086-003

	<b>AUERSWALD Günter</b>	<b>SCHINDL Thomas</b>	<b>WITZEL Simone</b>
<b>1</b> Berater- bzw. Gutachtertätigkeit	nein	nein	nein
<b>2</b> Mitarbeit in einem wissenschaftlichen Beirat (advisory boards)	nein	nein	nein
<b>3</b> Bezahlte Vortrags-/oder Schulungstätigkeiten	Biotest	nein	AWMF-IMWi
<b>4</b> Bezahlte Autoren-/oder Coautorenschaft	nein	nein	nein
<b>5</b> Forschungsvorhaben/ Durchführung klinischer Studien	nein	nein	DKH BMG G-BA BMBF
<b>6</b> Eigentümerinteressen (Patent, Urheberrecht, Aktienbesitz)	nein	nein	nein
<b>7</b> Indirekte Interessen	Stv. Vorsitzender DHG	Vorsitzender ÖHG	Mitglied AWMF
<b>8</b> Von COI betroffene Themen der Leitlinie <sup>1</sup> , Einstufung bzgl. der Relevanz; Konsequenz	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine	Beurteilung: keine thematische Relevanz Konsequenz: keine

<sup>1</sup> In die tabellarische Zusammenfassung wurden hier nur die Angaben übertragen, für die nach Diskussion und Bewertung der vollständig entsprechend Formblatt der AWMF offengelegten Sachverhalte in der Leitliniengruppe ein thematischer Bezug zur Leitlinie festgestellt wurde. Die vollständigen Erklärungen sind bei Jennifer Gebetsberger hinterlegt.

**Versionsnummer: 3.0****Erstveröffentlichung: 10/2012****Überarbeitung von: 07/2024****Nächste Überprüfung geplant: 07/2029**

Die AWMF erfasst und publiziert die Leitlinien der Fachgesellschaften mit größtmöglicher Sorgfalt - dennoch kann die AWMF für die Richtigkeit des Inhalts keine Verantwortung übernehmen. **Insbesondere bei Dosierungsangaben sind stets die Angaben der Hersteller zu beachten!**