

Stellenwert der Diagnostik bei Kindern mit "delta-Storage Pool Disease"

Blutplättchen bzw. Thrombozyten sind zelluläre Bestandteile des Blutes und maßgeblich an der Stillung von Blutungen beteiligt. Eine reduzierte Menge an Blutplättchen (Thrombozytopenie) oder eine fehlerhafte Funktion (Thrombozytopathie) kann eine verstärkte Blutungsneigung verursachen und unbehandelt letztlich zu lebensbedrohlichen Blutungen führen. Thrombozyten haben drei Arten von Granula, die bei Aktivierung ausgeschüttet werden können: (1) in den alpha-Granula sind über 100 verschiedene gerinnungsaktive Proteine gespeichert, (2) die delta-Granula beinhalten Nukleotide wie ATP, ADP sowie Serotonin und Calcium; ihre Ausschüttung ist essentiell für eine auto- bzw. parakrine Verstärkung der Aktivierung, sowie (3) die lysosomalen Granula, die Hydrolasen gespeichert haben.

Patienten mit angeborenen Defekten in den **delta-Granula** (*delta-Storage Pool Disease*, SPD) weisen zwar in der Regel nur eine milde Blutungsneigung auf, diese kann aber auch (z.B. bei Operationen oder Trauma) lebensbedrohlich werden. Bislang sind die delta-Granula in Thrombozyten noch eher unzureichend charakterisiert. Dies ist unter anderem der Tatsache geschuldet, dass es bislang keine zuverlässigen Marker gibt, die in der Routine-Diagnostik Einzug gehalten haben. Momentan erfolgt die Diagnose SPD in wenigen, spezialisierten Laboratorien, zumeist durch luminometrische Messung der ATP-Freisetzung oder eine Quantifizierung der Nukleotide sowie deren Verhältnisse in chromatographischen Verfahren (HPLC). Die Freisetzung der delta-Granula kann auch durchflusszytometrisch erfolgen, z.B. wenn die Granula mit dem Farbstoff Mepacrin beladen werden und die Signalintensitäten vor und nach Stimulation der Thrombozyten mit Agonisten analysiert werden. Eine verbesserte Diagnostik, die letztlich auch optimierte Prophylaxe- und Therapieoptionen ermöglicht, ist für diese Gruppe von Patienten also dringend benötigt.

Frau cand. med. Julia Eilenberger hat im Rahmen ihrer Doktorarbeit einen Brückenschlag geleistet, um dieses Problem anzugehen. Zunächst wurden in Kooperation mit der Praxis von Prof. Stefan Eber in München und dem Labor von Dr. Schambeck die bisherigen Tests bei über 50 Kindern mit Verdacht auf SPD (und zumeist einer positiven Familienanamnese) durchgeführt. Die Blutungsneigung der Patienten wurde stets durch denselben Arzt mittels eines validierten und standardisierten Fragebogens für Kinder (nach ISTH-BAT) erhoben. Im Rahmen der zweiten Vorstellung der Patienten in der Praxis wurde eine Blutprobe dann auch in das Labor von Prof. Schulze in Würzburg gebracht und dort mittels eines neuen Tests im Durchflusszytometer analysiert. Neben der klassischen Bestimmung von Oberflächenmarkern der ruhenden und simulierten Thrombozyten, wurde auch ein von Frau Eilenberger optimierter Test verwendet, der die Be- und Entladung der delta-Granula zeitlich auflöst. Dazu werden nur minimale Blutmengen von unter 100 µL benötigt. Die Auswertung aller Daten hat ergeben, dass sich die Patienten in zwei Hauptgruppen einteilen lassen: Beladungsdefekte und Freisetzungsdefekte. Darüber hinaus konnten wenige kombinierte Defekte sowie unauffällige Befunde erhoben werden. Nach Korrelation der verschiedenen Testsysteme untereinander und in Zusammenhang mit den klinischen Daten kann nun die Erkrankung besser eingeteilt werden. Damit ist auch die Grundlage geschaffen, dass durch die Gruppierung der Patienten auch weitere klinische Parameter erhoben werden können sowie letztlich

die Identifikation der zugrundeliegenden genetischen Veränderungen möglich gemacht werden kann.

Die ersten Ergebnisse dieser Studie hat Frau Eilenberger bereits auf der Jahrestagung der Gesellschaft für Thrombose- und Hämostasenforschung (GTH) in Basel vorstellen können. Die Publikation der gesamten Studie wurde zusammen mit ihrem Betreuer Dr. Manukjan erstellt und wird derzeit für die Einreichung in einer Fachzeitschrift finalisiert. Die von Frau Eilenberger entwickelten Techniken haben bereits bei uns im Labor zu einer Optimierung der diagnostischen Verfahren bei Kindern mit Verdacht auf eine thrombozytäre Blutungsstörung geführt und wir sind sehr zuversichtlich, dass sich durch diese Arbeit eine Lücke in der Diagnostik schließen lässt, gerade auch aufgrund der Einfachheit des Tests und des geringen benötigten Probenvolumens.