

Diagnostik der Heparin-induzierten Thrombozytopenie – Update 2009

T. Aslan und A. Greinacher

■ Einleitung

Heparine sind die am häufigsten verwendeten Antikoagulantien zur Vorbeugung und Behandlung thromboembolischer Erkrankungen. Unfraktioniertes Heparin (UFH) ist ein Gemisch aus Mukopolysacchariden unterschiedlicher Kettenlänge. Durch Fraktionierung werden die Niedermolekularen Heparine (NMH) aus unfraktioniertem Heparin gewonnen.

Die wichtigste unerwünschte Arzneimittelwirkung bei der Heparinanwendung ist, neben einer erhöhten Blutungsneigung, die immunologisch vermittelte Heparin-induzierte Thrombozytopenie (HIT) [1].

Die Bildung von Antikörpern gegen Plättchenfaktor(PF)4-Heparin-Komplexe, einhergehend mit einer Thrombozytopenie und/oder thromboembolischen Komplikationen unter Heparin-Therapie wird als immunologische HIT

oder HIT Typ II bezeichnet. Hiervon abzugrenzen ist die HIT Typ I, die gekennzeichnet ist durch einen reversiblen Thrombozytenabfall nicht-immunologischer Genese ohne Gerinnungsaktivierung (im Weiteren wird der Begriff HIT stellvertretend für die immunologische HIT (II) verwendet).

Ursächlich für die bedrohliche HIT ist die Bildung von IgG-Antikörpern gegen PF4-Heparin-Komplexe. Der Komplex aus IgG-Antikörper und PF4-Heparin bindet via FcγIIa-Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche und führt zu einer ausgeprägten Thrombozytenaktivierung. Die damit ausgelöste Thrombinbildung ist die Initialzündung für eine überschießende Gerinnungsaktivierung. Paradoxerweise kommt es somit trotz Antikoagulation und Thrombozytopenie zu disseminierter Thrombenbildung [1, 2].

■ Häufigkeit – Inzidenz

Insgesamt tritt die HIT relativ häufig (0,5–5 %) bei Therapie mit unfraktioniertem Heparin (UFH) auf. Die Häufigkeit einer HIT bei Anwendung von NMH wird mit bis zu ca. 0,1 % angegeben. Für Fondaparinux wird eine noch niedrigere Wahrscheinlichkeit angenommen (Einzelfälle in der Literatur). Weiterhin ist das Risiko eine HIT zu entwickeln, stark abhängig vom Patientenkollektiv, bzw. der Grunderkrankung. So ist das Auftreten einer HIT häufiger bei chirurgischen (bis zu 5 %) gegenüber nichtchirurgischen Patienten (bis zu ca. 0,5 %) [3].

■ Klinische Wahrscheinlichkeit – 4T-Score

Die Heparin-induzierte Thrombozytopenie vom immunologischen Typ sollte in die Differenzialdiagnose einbezogen werden, wenn eines der folgenden Symptome, in Verbindung mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen PF4-Heparin-Komplexe, auftritt:

1. Abfall der Thrombozytenzahl um mehr als 50 % des Ausgangswertes, ohne sonst ersichtlichen Grund
2. Neu aufgetretene venöse oder arterielle Thrombosen, auch ohne einen Thrombozytenabfall
3. Hautexanthem bis Hautnekrosen
4. Akute systemische (anaphylaktoide) Reaktionen nach Heparinbolus

Typischerweise treten diese Symptome 5–10 Tage nach Beginn der Heparin-Therapie auf, da das Immunsystem mehrere Tage Zeit benötigt um IgG-Antikörper zu bilden [4]. Wenn der Patient jedoch in den letzten 4 Wochen bereits Heparin erhalten hatte (sehr selten innerhalb der letzten 30–100 Tage), kann er bei Vorimmunisierung direkt nach Beginn der Heparin-gabe Symptome entwickeln (siehe Tabelle 4T-Score). Das klinische Erscheinungsbild einer HIT kann auch ohne gravierenden Thrombozytenzahlabfall auftreten.

Die Diagnose-Kriterien wurden in ein standardisiertes Punktesystem zur Beurteilung der klinischen Wahrscheinlichkeit aufgenommen.

Durch die Anwendung des sogenannten 4T-Punktesystems (Thrombocytopenia, Thrombosis, Timing und Other Causes) können Patienten in Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher klinischer Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines HIT Syndromes eingeteilt werden [5].

■ Niedrige klinische Wahrscheinlichkeit (4T-Score-Wert < 4)

Für Patienten mit einem niedrigen Score-Wert, unter 4 Punkten, liegt die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HIT vom immunologischen Typ unter 5 %. Es wird die wiederholte Bewertung (Reevaluation) und Kontrolle der klinischen Symptomatik empfohlen.

■ Mittlere und hohe klinische Wahrscheinlichkeit (4T-Score-Wert ≥ 4)

Für Patienten mit einer mittleren (4–5 Punkte) oder hohen (6–8 Punkte) klinischen Wahrscheinlichkeit wird die Untersuchung auf PF4-Heparin-Antikörper empfohlen. Bei hoher Wahrscheinlichkeit sollte auch die direkte Umsetzung der Therapie auf ein alternatives Antikoagulans erwogen werden (z. B. Lepirudin, Argatroban, Danaparoid), insbesondere wenn bereits eine neue Thrombose aufgetreten ist.

Lassen sich HIT-Antikörper nicht nachweisen, ist eine HIT sehr unwahrscheinlich. Auch für Patienten mit mittlerer und hoher Wahrscheinlichkeit sollte eine klinische Reevaluation im Verlauf erfolgen.

Eine wiederholte Testung ist nur sinnvoll, wenn neue klinische Symptome auftreten, die mit einer HIT vereinbar sind. Sonst werden nur zufällig auftretende, klinisch meist irrelevante Antikörper erfasst.

■ **Andere Ursachen einer Thrombozytopenie**

- EDTA-induzierte Pseudothrombopenie
- post-transfusionelle Purpura*
- hämatologische Systemerkrankung
- thrombotisch-thrombozytopenische Purpura
- andere Medikamente*
(außer Heparin z. B. Chinin, Chinidin, Co-Trimoxazol, Rifampicin, Paracetamol, Diclofenac, Carbamazepin)
- Immunthrombopenie
- Sepsis

(*Thrombozytenwerte meist < 10.000/ μ l)

■ **Labormedizinische Nachweisverfahren**

Zum Nachweis von PF4-Heparin-Antikörpern stehen zwei Gruppen von Laborverfahren zur Verfügung:

Antigen-basierte Verfahren weisen Antikörper (IgG, IgA und IgM) im Serum gegen PF4-Heparin- (oder Polyvinylsulfat) Komplexe nach. Diese Verfahren basieren auf dem bewährten Prinzip des Enzym-Immunoassay (EIA). Wenn Antikörper gegen das untersuchte Antigen vorhanden sind, kann durch einen markierten Sekundär-(anti-human Ig)Antikörper eine Farbreaktion ausgelöst werden.

Ein negativer PF4-Heparin-AK-EIA kann eine HIT vom immunologischen Typ mit sehr hoher Sicherheit (Sensitivität je nach Studie 80–100 %) [7, 8] ausschließen. Diese Tests haben damit einen hohen negativ-prädiktiven Wert, d. h. ein negatives Ergebnis schließt eine HIT weitestgehend aus.

Die Spezifität des PF4-Heparin-Antikörper-EIA wird zwischen 75–80 % angegeben [7, 8].

Bei einem schwach positiven oder grenzwertigen Antikörper-Nachweis wird die Überprüfung der Hemmbarkeit der Antikörper-Reaktion durch Heparin-Zugabe getestet (sog. Heparin-Inhibitions EIA). Hierdurch kann die Spezifität verbessert werden, da ggf. störende Autoantikörper gegen PF-4, wie z. B. bei Antiphospholipid-Syndrom, nicht durch Heparin-Zugabe gehemmt werden können [9, 10].

Die zweite Gruppe, der zur Verfügung stehenden Verfahren, bilden die funktionellen Tests. Anwendung findet hierbei vor allem das Verfahren Heparin-induzierter Plättchen-Aktivierungs-Test (HIPA- Test) [11].

Hierbei werden gewaschene Spender-Thrombozytensuspensionen mit verschiedenen Konzentrationen an Heparin und dem Serum des Patienten gemischt. Vorhandene aktivierende Antikörper führen zu einer typischen Plättchen-Aggregation.

Der HIPA-Test ist hinsichtlich der Durchführung und Beurteilung sehr aufwendig [11] und spezialisierten Laboratorien vorbehalten.

Die funktionellen Tests haben im Vergleich zu den Antigen-Testen eine vergleichbare Sensitivität, erreichen jedoch eine bessere Spezifität für klinisch relevante Antikörper. Dies hängt damit zusammen, dass vor allem HIT-Antikörper, die zu einer deutlichen Plättchen-Aktivierung führen, entsprechend auch das klinische Vollbild einer HIT auslösen können.

Bei negativem Funktionstest ist eine HIT sehr unwahrscheinlich, auch wenn der hochsensitive Antigentest positiv war. Jedoch sollte in diesen Fällen die klinische Wahrscheinlichkeit (4T-Score) einbezogen werden und bei hoher klinischer Wahrscheinlichkeit, ggf. trotzdem eine Umstellung auf eine alternative Antikoagulation erfolgen. Bei niedriger Punktzahl im Score muss das Blutungsrisiko des Patienten unter alternativen Antikoagulantien gegen das Risiko einer HIT-bedingten neuen Thrombose unter Fortführung der Heparin-Therapie abgewogen werden (z. B. bei septischen Patienten mit isolierter Thrombozytopenie).

■ Stufendiagnostik

Eine sinnvolle Stufendiagnostik basiert auf der Anforderung des PF4-Heparin-Antikörper-EIA als Suchtest mit Angabe der entsprechenden klinischen Wahrscheinlichkeit (4T-Score).

Bei fehlendem Nachweis, also negativem EIA, kann eine HIT vom immunologischen Typ mit hoher Sicherheit ausgeschlossen werden (negativer Vorhersagewert 99,8 %).

Sehr selten lösen Antikörper gegen andere Antigene als PF4/Heparin eine HIT aus. In diesen Fällen ist der auf PF4/Heparin basierende Suchtest negativ. Deshalb sollte der Patient bei sehr hohem klinischen Verdacht (Score > 5) zunächst wie bei einer HIT behandelt werden.

Bei deutlich positivem Antikörper-Nachweis im Antigen-EIA, (oder bei hohem klinischen Verdacht trotz negativem EIA) sollte der funktionelle HIPA-Test direkt im Anschluss als Bestätigungsverfahren (zur Bestätigung der klinischen Relevanz) durchgeführt werden, da PF4-spezifische Antikörper auch ohne das klinische Vollbild einer HIT II vorliegen können.

Bei schwach reaktiven oder grenzwertigen Antikörper-Immunoassay-Resultaten wird die Hemmbarkeit der Antigen-Antikörper-Bindung durch hohe Heparin-Konzentrationen (als Marker der spezifischen Bindung) untersucht.

Nur wenn eine Inhibition durch Heparin-Zugabe nachgewiesen wird, sollte ein funktioneller Assay zur Klärung angeschlossen werden.

Kann eine Klärung in keinem der angeführten Untersuchungsverfahren erfolgen, so sollte eine Reevaluation und ggf. eine Wiederholung der Testungen erfolgen. Die Antikörperbildung geht zeitlich der klinischen Symptomatik voraus. Daher sind wiederholte Untersuchungen nur sinnvoll bei Änderung der klinischen Symptome, die auf eine Heparin-induzierte Thrombozytopenie hinweisen.

Wichtig: Extinktionswerte (OD) verschiedener Photometer (verschiedener Labore) sind nicht direkt vergleichbar, da es sich hierbei um willkürliche Einheiten (arbitrary units) handelt.

■ Zusammenfassung

- Bei Heparinanwendung soll an das Risiko einer HIT II gedacht werden! (siehe auch S3-Leitlinie zur Prophylaxe venöser Thromboembolien, 2009, AWMF)
- Die Bildung der IgG-Antikörper gegen Plättchenfaktor-4-Heparin-Komplexe ist mit der Ausprägung des klinischen Bildes der HIT verbunden.
- Die klinische Wahrscheinlichkeit lässt sich mit einem standardisierten Score (4Ts) in niedrig, mittel und hoch einstufen.
- Die Kombination von klinischer Wahrscheinlichkeit und Testung auf PF4-Heparin-AK (HIT IgG Ak) hat eine hohe diagnostische Sensitivität.
- Bei negativem Enzymimmunoassay für IgG-Antikörper gegen PF4-Heparin-Komplexe, kann eine HIT weitestgehend ausgeschlossen werden (negativer Vorhersagewert 99,5 %).
- Der deutlich positive Nachweis (OD > 1,0) von IgG-Antikörpern hat eine höhere Spezifität für eine klinisch relevante HIT [13] als eine OD < 1.0.
- Die Spezifität des EIA kann durch eine Inhibitions-Testung mit Heparin bei schwach positiven Resultaten (OD 0,4–1,0) erhöht werden, da sich der Komplex aus Antikörper und PF4-Heparin bei hohen Heparin-Konzentrationen auflösen lässt [12].
- Es gibt keine klassische Immunglobulin-Klassen-Chronologie (IgG, IgA, IgM), alle Antikörperklassen können gleichzeitig auftreten [14]. Eine klinische Relevanz für IgA- und IgM-Antikörper konnte nicht nachgewiesen werden.
- Bei positivem IgG-Ak-Nachweis (EIA) und Heparin-Inhibition, wird die Bestätigung mit Hilfe eines funktionellen Tests (Heparin-induzierter Plättchen-Aktivierungstest) empfohlen.

Datum:

4T-Score zur Beurteilung der klinischen Vortest-Wahrscheinlichkeit der Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT)

(Nach Lo et al, J Thromb Hemost, 4: 759- 765, 2006)

Patientendaten/Etikett

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

Station:

Punkt-Wertung
nach klinischer Ausprägung

Klinik	Bewertung Patient	2	1	0
Thrombozytopenie		Abfall der Thrombozytenzahl um mehr als 50 % des Ausgangswertes <u>oder</u> niedrigster Wert 20–100 G/l	Abfall der Thrombozytenzahl um 30–50 % des Ausgangswertes <u>oder</u> niedrigster Wert 10–19 G/l	Abfall der Thrombozytenzahl um weniger als 30 % des Ausgangswertes <u>oder</u> niedrigster Wert < 10 G/l
Timing/Verlauf Tag des Thrombozytenabfall		Zwischen Tag 5–14 der Heparin-Therapie <u>oder</u> ≤ Tag 1 bei Heparin-Exposition in den letzten 30 Tagen	Wahrscheinlich zwischen 5.–14. Tag; Beginn nach dem 14. Tag; <u>oder</u> ≤ Tag 1 bei früherer Heparin-Exposition zwischen 30–100 Tagen	Kein zeitlicher Zusammenhang, Abfall < Tag 4 (ohne vorhergehende Heparin-Therapie)
Thrombose oder andere Komplikationen		<u>Gesicherte neue</u> Thrombose oder Hautnekrosen; Anaphylaxie nach Heparin-Bolus	V. a. Thrombose; Progression oder Rezidiv einer Thromboembolie; Hautreaktionen	Keine Komplikationen
Andere Ursachen für Thrombozytenabfall/Thrombozytopenie wahrscheinlicher		Keine	Wahrscheinlich	Definitiv
Gesamt-Score				

0–3 Punkte: niedrige klinische Wahrscheinlichkeit (< 5 %)

- weitere Kontrolle der Thrombozytenzahl, Abklärung anderer Ursachen, Labordiagnostik der HIT nur bei neuen klinischen Symptomen (neue Thrombose unter Heparin)

4–5 Punkte: mittlere klinische Wahrscheinlichkeit

- ggf. Umstellung der Antikoagulation auf ein, für die Therapie der HIT zugelassenes, Antikoagulanz (z. B. Lepirudin, Argatroban oder Danaparoid-Natrium); Untersuchung auf PF-4-Heparin-Antikörper (2 ml Serum an Labor)

6–8 Punkte: hohe Wahrscheinlichkeit

- Umstellung der Antikoagulation auf ein, für die Therapie der HIT zugelassenes, Antikoagulanz (z. B. Lepirudin, Argatroban oder Danaparoid-Natrium); Untersuchung auf PF4-Heparin-Antikörper (2 ml Serum an Labor)

Abb. 1: 4T-Score zur Beurteilung der klinischen Vortest-Wahrscheinlichkeit der Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT) (Weitere Hinweise zur Nutzung des 4T-Score können wir Ihnen auf Anforderung gerne zusenden.)

■ **Stufendiagnostik bei V. a. HIT**

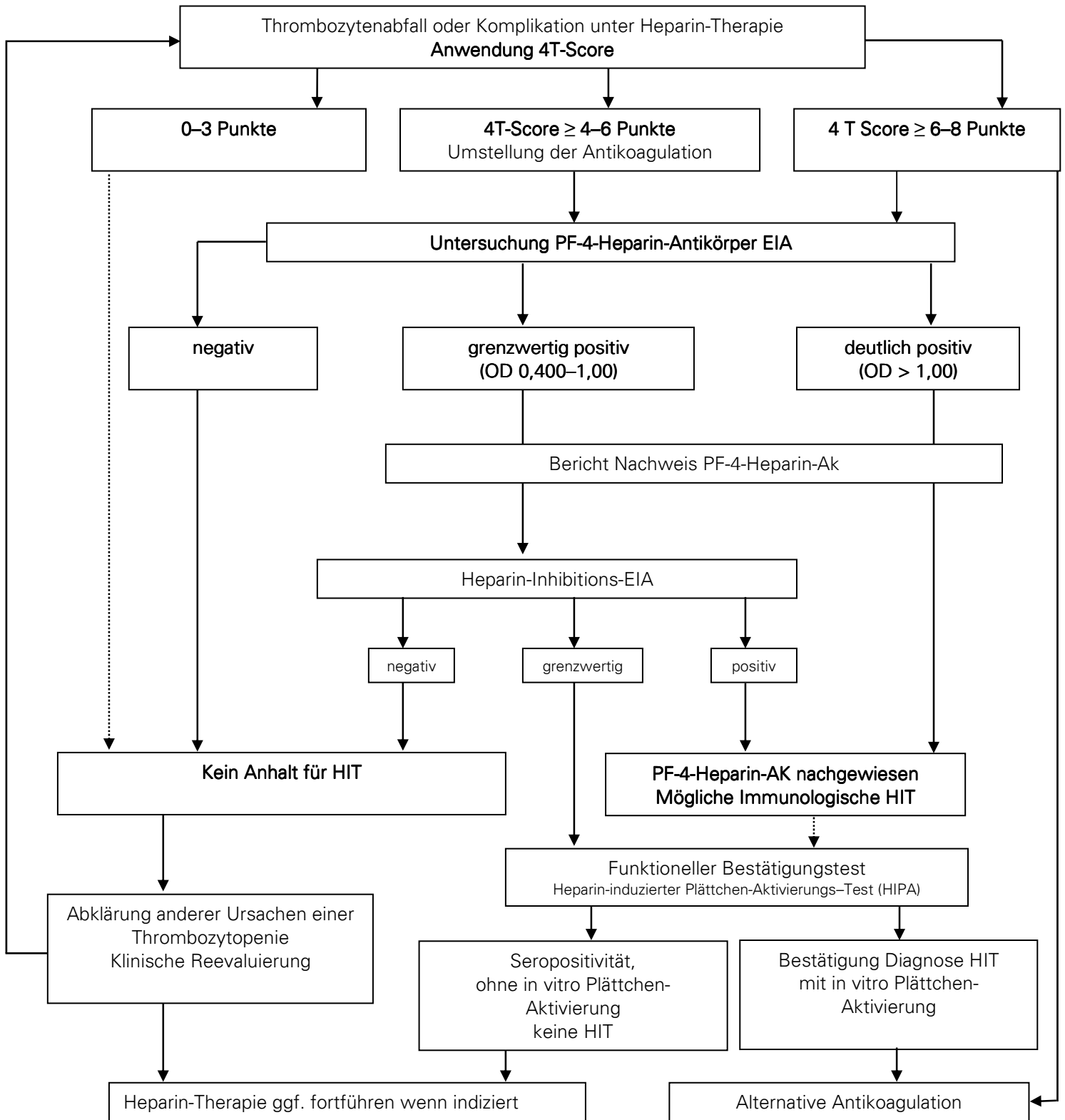


Abb. 2: Stufendiagnostik bei V. a. HIT

■ Literatur

- 1) Greinacher, A. and T.E. Warkentin, Recognition, treatment, and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: review and update. *Thromb Res*, 2006. 118(2): p. 165-76.
- 2) Alberio, L., Heparin-induced thrombocytopenia: some working hypotheses on pathogenesis, diagnostic strategies and treatment. *Curr Opin Hematol*, 2008. 15(5): p. 456-64.
- 3) Chong, B.H. and A. Isaacs, Heparin-induced thrombocytopenia: what clinicians need to know. *Thromb Haemost*, 2009. 101(2): p. 279-83.
- 4) Warkentin, T.E., et al., Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*, 2008. 133(6 Suppl): p. 340S-380S.
- 5) Lo, G.K., et al., Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost*, 2006. 4(4): p. 759-65.
- 6) Chan, M., et al., Utility of consecutive repeat HIT ELISA testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol*, 2008. 83(3): p. 212-7.
- 7) Bakchoul, T., et al., Prospective evaluation of PF4/heparin immunoassays for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost*, 2009.
- 8) Leo, A. and S. Winteroll, Laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia and monitoring of alternative anticoagulants. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2003. 10(5): p. 731-40.
- 9) Whitlatch, N.L., S.L. Perry, and T.L. Ortel, Anti-heparin/platelet factor 4 antibody optical density values and the confirmatory procedure in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost*, 2008. 100(4): p. 678-84.
- 10) Pazner, R., et al., False positive tests for heparin induced thrombocytopenia in patients with antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus. *J Thromb Haemost*, 2009.
- 11) Greinacher, A., et al., A rapid and sensitive test for diagnosing heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost*, 1991. 66(6): p. 734-6.
- 12) Warkentin, T.E., Confirmatory procedure and other maneuvers to assess pathogenicity of platelet factor 4 (PF4)-dependent antibodies—distinguishing "signal" from "noise". *Thromb Haemost*, 2008. 100(4): p. 523-4.
- 13) Warkentin, T.E., et al., Studies of the immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 2009.
- 14) Greinacher, A., et al., The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood*, 2009. 113(20): p. 4970-6.

■ Herausgeber

Bioscientia
Institut für
Medizinische Diagnostik GmbH
Konrad-Adenauer-Straße 17
55218 Ingelheim

Autoren:

Dr. med. Tunay Aslan
Facharzt für Laboratoriumsmedizin und
Transfusionsmedizin, Hämostaseologie
Bioscientia Ingelheim

Prof. Dr. med. Andreas Greinacher
Facharzt für Transfusionsmedizin,
Direktor des Institut für Transfusionsmedizin
Ernst Moritz Arndt Universität Greifswald

Redaktion:

Nadja Franzen



Bioscientia
Institut für Medizinische Diagnostik GmbH

Regionallabors:

Labor Berlin
Alt-Moabit 91a
10559 Berlin
Tel. (0 30) 48 52 61 00
Fax (0 30) 48 52 62 75
labor-berlin@bioscientia.de

Labor Ingelheim
Konrad-Adenauer-Straße 17
55218 Ingelheim
Tel. (0 61 32) 78 10
Fax (0 61 32) 78 12 14
labor-ingelheim@bioscientia.de

Labor Karlsfeld
Liebigstraße 14
85757 Karlsfeld
Tel. (0 81 31) 59 40
Fax (0 81 31) 59 41 09
labor-karlsfeld@bioscientia.de

Labor Moers
Zum Schürmannsgraben 30
47441 Moers
Tel. (0 28 41) 10 60
Fax (0 28 41) 1 06 18/35
labor-moers@bioscientia.de

Labor Hamburg
Papenreye 63
22453 Hamburg
Tel. (0 40) 55 78 10
Fax (0 40) 5 57 81 26
labor-hamburg@bioscientia.de

Labor Jena
Orlaweg 2
07743 Jena
Tel. (0 36 41) 4 01 30
Fax (0 36 41) 40 13 38
labor-jena@bioscientia.de

Labor Mainz
Bahnhofplatz 2
55116 Mainz
Tel. (0 61 31) 5 76 08 10
Fax (0 61 31) 21 15 03
labor-mainz@bioscientia.de

Labor Saarbrücken
Winterberg 1
66119 Saarbrücken
Tel. (0 6 81) 88 37 91 10
Fax (0 6 81) 88 37 91 39
labor-saarbruecken@bioscientia.de



Akkreditiert durch
Zentralstelle der Länder
für Gesundheitsschutz
bei Arzneimitteln
und Medizinprodukten
ZLG-P-366.07.02



Bioscientia, Ingelheim ist seit 1987 CAP akkreditiert