

Aus der Klinik für Innere Medizin II,  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert

**Über die Bedeutung von Immature Platelet Fraction und  
Thrombopoietin bei Patienten mit Leberzirrhose**

***Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Medizin***

**der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES 2017

vorgelegt von:

Philip Jonas Rauber

geb. am 26.05.1990 in Püttlingen

**Dekan:**

**1. Gutachter:**

**2. Gutachter:**

**Jahr der Promotion:**

**Theo Zell**

# 1. Inhaltsverzeichnis

1. Inhaltsverzeichnis .....	I
2. Abkürzungs-, Abbildungs- und Tabellenverzeichnis .....	III
3. Zusammenfassung .....	1
4. Einleitung .....	4
4.1 Leberzirrhose .....	4
4.2 Komplikationen .....	5
4.2.1 Portale Hypertension .....	5
4.2.2 Pathogenese des Aszites und der spontanen bakteriellen Peritonitis .....	7
4.2.3 Ösophagusvarizen und portal-hypertensive Gastropathie .....	9
4.2.4 Renale Veränderungen bei Leberzirrhose und hepatorenales Syndrom .....	10
4.3 Prognose und prädiktive Parameter bei Leberzirrhose .....	12
4.3.1 Prädiktive Faktoren für das Überleben .....	12
4.3.2 Parameter für das Auftreten von Komplikationen .....	16
4.4 Bedeutung und Anwendungsbereiche der Immature Platelet Fraction (IPF%) .....	18
4.5 Thrombozyten, Thrombopoietin und IPF% bei Leberzirrhose .....	20
4.6 Fragestellungen der Studie .....	27
5. Methodenteil .....	28
5.1 Patienten .....	28
5.2 Laborchemische Parameter .....	29
5.3 Bestimmung von IPF% und Thrombopoietin .....	30
5.4 Methoden zur Diagnostik der Leberzirrhose und damit assoziierter Veränderungen .....	31

5.5	Statistik.....	33
6.	Ergebnisse.....	34
6.1	Charakteristika des Studienkollektivs.....	34
6.2	Häufigkeit verschiedener Komplikationen der Leberzirrhose .....	36
6.3	Laborchemische Analysen .....	38
6.4	Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose .....	39
6.5	IPF% und Schweregrad der Leberzirrhose .....	44
6.6	Zusammenhang von IPF% und Thrombozytopenie mit dem Auftreten von Komplikationen.....	47
6.7	Prädiktive Parameter für das Auftreten von Komplikationen bei Patienten mit Leberzirrhose .....	52
6.8	Mortalität bei Patienten mit Leberzirrhose .....	62
7.	Diskussion.....	68
7.1	Ursachen der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose.....	68
7.2	IPF%, Thrombopoietin und Thrombozyten und der Grad der Leberzirrhose .....	76
7.3	IPF% und Thrombozyten als prädiktive Parameter für das Auftreten von Komplikationen der Leberzirrhose und Mortalität .....	79
7.4	Schlussfolgerung und Ausblick .....	83
8.	Literaturverzeichnis .....	85
9.	Publikationen.....	98
10.	Dank.....	99

## 2. Abkürzungs-, Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abkürzungen:

°C	Grad Celsius
a-IPF	Absoluter Anteil an unreifen Thrombozyten
ACS	Akutes-Koronar-Syndrom
AIH	Autoimmunhepatitis
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
APRI	AST-to-platelet-ratio-index
AUROC	area under the receiver operating characteristic curve
BNP	„Brain“ natriuretisches Peptid
CF	Cystische Fibrose
CFF	Critical Flicker Frequency
CRP	C-reaktives Protein
CSPH	Klinisch signifikante portale Hypertension
CT	Computertomographie
dl	Deziliter
ICD-10	Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme
INH	Isonicotinsäurehydrazid, Isoniazid
IPF	Immature Platelet Fraction
IPF%	Prozentualer Anteil unreifer Thrombozyten an Gesamtthrombozytentzahl
FHVP	Free Hepatic Venous Pressure
GBE	Gesundheitsberichterstattung des Bundes

GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis-C-Virus
HE	Hepatische Enzephalopathie
HRS	Hepatorenales Syndrom
HSC	Hepatic Stellate Cell (Ito Zelle)
HVPG	Hepatic Venous Pressure Gradient
HWI	Harnwegsinfekt
MELD	Model for End-stage Liver Disease
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MLN	Mesenteric Lymph Nodes
mmol	Millimol
MPV	Mean Platelet Volume
MRT	Magnetresonanztomographie
NAFLD	Nonalcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Nicht-Alkoholische-Steato-Hepatitis
NT	Nutritiv-toxisch
NT-proBNP	N-terminales Fragment des proBNP
ÖGD	Ösophagogastroduodenoskopie
PAIgG	platelet associated immunoglobulin G
PC/SD-ratio	Platelet Count/Spleen Diameter ratio
PPG	Portal Pressure Gradient
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RET	Retikuloendotheliales System
RNA	Ribonukleinsäure
SBP	Spontane Bakterielle Peritonitis
SD	Standardabweichung
SIBO	small intestinal bacterial overgrowth
SNS	Sympathisches Nervensystem

STEMI	ST-elevation-myocardial-infarction; ST- Hebungsinfarkt
TIPS	Transjugulärer intrahepatischer porto- systemischer Shunt
TPO	Thrombopoietin
WHVP	Wedge Hepatic Venous Pressure
z.B.	Zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach

### Abbildungen:

Abbildung 1: links: Normalzustand; rechts: vaskuläre und architektonische Veränderungen bei Leberzirrhose, modifiziert nach Schuppan et al. [1].....	5
Abbildung 2: Die „forward“-Theorie der Aszitesentstehung modifiziert nach Arroyo et al. [9].....	8
Abbildung 3: Kreisdiagramm Ätiologie der Leberzirrhose; Angabe in absoluter Patientenzahl .....	35
Abbildung 4: Boxplot: Thrombozytenzahl und IPF%.....	41
Abbildung 5: Boxplot: Thrombozytenzahl und Milzgröße .....	41
Abbildung 6: Boxplot: schwere, moderate und milde Thrombozytopenie und Milzgröße .....	42
Abbildung 7: Boxplot: Child-Pugh-Klassifikation und IPF%.....	45
Abbildung 8: Boxplot: MELD-Score und IPF%.....	46
Abbildung 9: Boxplot: Ösophagusvarizen und IPF%.....	48
Abbildung 10: ROC-Kurve NT-proBNP und Aszites.....	53
Abbildung 11: ROC-Kurven Bilirubin, INR, Quick, Albumin, CystatinC, Leukozyten und Aszites .....	54
Abbildung 12: ROC-Kurve NT-proBNP und SBP .....	56
Abbildung 13: ROC-Kurven Kreatinin und SBP, CystatinC und SBP .....	57
Abbildung 14: ROC-Kurve IPF% und Ösophagusvarizen .....	59

Abbildung 15: ROC-Kurven Kreatinin und HRS, CystatinC und HRS .....	61
Abbildung 16: Kaplan-Meier Diagramm: Gesamtüberleben im 90 Tage Nachbeobachtungszeitraum .....	62
Abbildung 17: Kaplan-Meier Diagramm: milde, moderate und schwere Thrombozytopenie .....	64
Abbildung 18: Kaplan-Meier Diagramm: Splenomegalie.....	65
Abbildung 19: Kaplan-Meier Diagramm: IPF% ober- und unterhalb des Referenzwertes von 6,1%.....	66
Abbildung 20: Kaplan-Meier Diagramm: IPF% ober- und unterhalb des Referenzwertes von 3,2%.....	67
Abbildung 21: Ursache der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose: Dabei soll die Milzgröße als Maß der Sequestration dienen, IPF% spiegelt die Aktivität des Knochenmarks wider und Thrombopoietin stellt einen Marker für die Syntheseleistung der Leber dar, in der es hauptsächlich gebildet wird.....	69

#### Tabellen:

Tabelle 1: Child-Pugh-Score: Child A: 5-6 Punkte, Child B: 7-9 Punkte, Child C: 10-15 Punkte, modifiziert nach Pugh et al. 1973 [37].....	13
Tabelle 2: Charakteristika des Studienkollektivs .....	35
Tabelle 3: Komplikationen des Kollektivs.....	38
Tabelle 4: Laborchemische Analyse des Kollektivs .....	39
Tabelle 5: Korrelation von Thrombozytenzahl mit IPF%, TPO und Milzgröße ....	40
Tabelle 6: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Thrombozytopenie .....	40
Tabelle 7: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Thrombozytopenie .....	42
Tabelle 8: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Chronische HCV-Infektion .....	43
Tabelle 9: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Alkoholabusus .....	43
Tabelle 10: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Leberzirrhose .....	44
Tabelle 11: t-Test bei unabhängigen Stichproben: MELD-Score > 15 .....	45

Tabelle 12: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Thrombopenie und laborchemische Parameter, welche als Grundlage von Child-Pugh-Score und MELD-Score dienen .....	46
Tabelle 13: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Vorhandensein von Ösophagusvarizen .....	47
Tabelle 14: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Ösophagusvarizen .....	48
Tabelle 15: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Ösophagusvarizenblutung ...	49
Tabelle 16: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Aszites .....	49
Tabelle 17: Einfaktorielle ANOVA: Aszites-Grad.....	50
Tabelle 18: t-Test bei unabhängigen Stichproben: HRS .....	50
Tabelle 19: T-Test bei unabhängigen Stichproben: SBP .....	51
Tabelle 20: T-Test bei unabhängigen Stichproben: Infektion (SBP, HWI, Pneumonie) .....	51
Tabelle 21: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten von Aszites .....	52
Tabelle 22: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten einer SBP.....	55
Tabelle 23: Allgemeines lineares Modell univariat: Vorhandensein von Ösophagusvarizen .....	58
Tabelle 24: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten eines HRS.....	60
Tabelle 25: Allgemeines lineares Modell univariat: Überleben 90-Tage .....	63

### 3. Zusammenfassung

**Hintergrund:** Patienten mit Leberzirrhose entwickeln häufig eine Thrombozytopenie. Wir haben untersucht, ob die Bestimmung der Immature Platelet Fraction (IPF%), welche den prozentualen Anteil unreifer Thrombozyten an der Gesamtthrombozytenzahl darstellt, und von Thrombopoietin (TPO), dem Wachstums- und Differenzierungsfaktor der megakaryozytären Zellreihe, dabei hilft, die Ursache der Thrombozytopenie einzugrenzen, und ob die Bestimmung der Immature Platelet Fraction Hinweise auf den Schweregrad der Leberzirrhose sowie das Auftreten von Komplikationen der Leberzirrhose geben kann. IPF% wird heute bereits zur Differenzierung der Ursachen einer Thrombozytopenie in der klinischen Praxis bestimmt, wohingegen die Bedeutung der TPO-Bestimmung aufgrund der vielfältigen Ergebnislage nicht abschließend geklärt ist.

**Methoden:** Im Zeitraum von März 2013 bis Januar 2014 wurden 88 Patienten mit Leberzirrhose prospektiv erfasst. Die erhobenen Daten umfassen den aktuellen Zustand und Verlauf der Erkrankung sowie laborchemische Parameter. Die Immature Platelet Fraction wurde durch das Analysegerät XE-5000 von Sysmex bestimmt, Thrombopoietin mittels eines ELISA. Die Einteilung des Schweregrades der Leberzirrhose erfolgte mittels Abdomensonographie und FibroScan®. Dabei wurde auch der Längsdurchmesser der Milz bestimmt. Zudem wurden der Child-Pugh-Score und der MELD-Score berechnet. Bei Vorliegen von Aszites wurde dieser nach Standard punktiert und auf das Vorliegen einer spontanen bakteriellen Peritonitis untersucht. Bei Erstdiagnose einer Leberzirrhose sowie bei akutem oder stattgehabtem Blutungsereignis innerhalb des letzten halben Jahres wurden die Patienten einer Ösophago-Gastro-Duodenoskopie unterzogen. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS® Statistics durchgeführt.

**Ergebnisse:** IPF% ( $p = 0,003$ ) und Milzgröße ( $p = 0,001$ ) sind bei Patienten mit Thrombozytopenie signifikant erhöht. Keine signifikanten Unterschiede zeigen die Mittelwerte von TPO. Die Mittelwerte von IPF% unterscheiden sich zwischen

den Child-Pugh-Stadien A, B, C signifikant ( $p = 0,044$ ). IPF% ist bei Patienten mit Ösophagusvarizen signifikant erhöht ( $p = 0,005$ ). Die ermittelte ROC-Kurve weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,669 auf eine geringe prädiktive Wertigkeit der IPF%-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens von Ösophagusvarizen hin. Bei einem Cut-off-Wert von IPF% von 3,85% liegt die Sensitivität nur bei 76,6% bei einer Spezifität von 52,4%.

**Schlussfolgerungen:** Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass die Splenomegalie eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Thrombozytopenie bei Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose spielt. Erhöhte IPF%-Werte bei Patienten mit Thrombozytopenie deuten auf einen peripheren Verbrauch der Thrombozyten hin, der aufgrund des signifikanten Zusammenhangs zwischen Längsdurchmesser der Milz und Thrombozytenzahl wahrscheinlich in der Milz stattfindet. Thrombopoietin zeigt keine signifikanten Veränderungen bei Patienten mit Thrombozytopenie, jedoch konnten wir nicht ausschließen, dass eine eingeschränkte Thrombopoietin-Synthese in der Leber einen Einfluss auf die Thrombozytenzahl im Blut hat. Die Zusammenhänge zwischen IPF% und Thrombozyten deuten dabei auf erhaltene physiologische Regulationsprozesse der Thrombozytenzahl im Blut bei mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose hin.

Unsere Ergebnisse deuten zudem darauf hin, dass die Bestimmung der IPF% Hinweise auf den Grad der Leberzirrhose sowie das Vorliegen von Ösophagusvarizen gibt. Diese Zusammenhänge werden durch unsere Studie erstmalig beschrieben. Aufgrund niedriger Sensitivität und Spezifität eignet sich die Bestimmung aktuell nicht als prädiktiver Parameter. Unsere Ergebnisse sollten jedoch in einer größeren Studie überprüft werden. Dabei sollte untersucht werden, wie sich IPF% bei gesunden Probanden im Verlauf des Lebens verhält und ob im Vergleich zu Patienten mit Leberzirrhose Unterschiede bestehen, insbesondere bei der Betrachtung des Verlaufs von Stadium Child-A hin zu Stadium Child-C. In diesem Zusammenhang könnte dann auch untersucht werden, ob sich bei der Entwicklung von Ösophagusvarizen Veränderungen der IPF%-Werte zeigen.

## **IPF and thrombopoietin in patients with liver cirrhosis:**

### **Background and aims**

Thrombocytopenia occurs frequently in patients with cirrhosis. The immature platelet fraction (IPF%) is measured to differentiate the causes of thrombocytopenia. So far the relevance of thrombopoietin (TPO) in the context of cirrhosis is unknown. The aim of our study was to investigate the cause of thrombocytopenia in patients with liver cirrhosis by measuring IPF%, TPO and spleen size. In addition we examined the use of IPF% to evaluate the severity of cirrhosis and its complications.

### **Methods**

Overall, we included 88 in-patients with cirrhosis in our study. The collected data comprises the current state of health, blood parameters, severity of cirrhosis evaluated by Child-Pugh score and MELD score, spleen diameter, ascites and esophageal varices. The IPF% was measured using an automatic hematology analyzer. TPO was measured by ELISA.

### **Results**

IPF% ( $p = 0.003$ ) and spleen diameter ( $p = 0.001$ ) are significantly higher in patients with thrombocytopenia. There is no significant difference in TPO in patients with thrombocytopenia as compared to patients without. The mean values of IPF% vary significantly ( $p = 0.044$ ) in Child-Pugh stages. IPF% is significantly ( $p = 0.005$ ) elevated in patients with esophageal varices. IPF% higher than 3.85% displayed sensitivity of 76.6% and specificity of 52.4% with an area under receiver operating curve characteristics of 0.669 for the presence of esophageal varices.

### **Conclusion**

Splenomegaly seems to be the major cause of thrombocytopenia in patients with cirrhosis. Higher IPF% in patients with thrombocytopenia indicates peripheral consumption of platelets. The relation between spleen diameter and platelet count indicates the spleen to be the major place of consumption. TPO did not differ between patients with and without thrombocytopenia. Furthermore, we

cannot exclude an influence of an impaired synthesis of thrombopoietin on platelet counts. The relation between IPF% and platelet count presumes that there is physiological regulation of platelets in patients with cirrhosis. In our study IPF% is associated with esophageal varices and the stage of cirrhosis. Further studies are needed to confirm our results.

## **4. Einleitung**

### **4.1 Leberzirrhose**

Die Inzidenz der Leberzirrhose liegt in Industrieländern, wie Europa und den USA, bei 250/100.000 Einwohner pro Jahr. Der Entstehung können dabei verschiedene Ursachen zugrunde liegen. Am häufigsten finden sich ein Alkoholabusus (30-40%), eine chronische Virushepatitis B und C (ca. 30%), eine nicht-alkoholische Fettleberhepatitis (NASH) (ca. 10%), und die kryptogene Zirrhose (ca. 10%). Seltener Ursachen sind die primär biliäre Zirrhose (PBC), die primär sklerosierende Cholangitis (PSC), Autoimmunhepatitis, Hämochromatose,  $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel, Morbus Wilson, toxische Lebererkrankungen (Methotrexat, INH), kardiale Zirrhose, Budd-Chiari-Syndrom, Gallengangsatresie und -stenose und Mukoviszidose.

Die Leberzirrhose wird als irreversibles Stadium der chronischen Lebererkrankung angesehen. Ein entscheidender Stimulus für den fibrotischen Umbau des Leberparenchyms ist eine inflammatorische Reaktion in Folge von Zellschäden unterschiedlicher Ätiologie. Dabei werden die in der Leber ansässigen Makrophagen, die Kupffer-Zellen, aktiviert und setzen weitere proinflammatorische Cytokine, wie den transforming-growth-factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), frei, welche wiederum die Ito-Zellen (hepatic stellate cell, HSC) aktivieren. Diese befinden sich im Disse-Raum, der die Lebersinusoiden mit den Hepatozyten verbindet. Im Folgenden produzieren die Ito-Zellen vermehrt kollagene Fasern, was zur Bildung von Septen zwischen den Portalfeldern untereinander und

zwischen Portalfeldern und Zentralvenen führt. Die dadurch veränderte Histoarchitektur der Leber hat zum einen zur Folge, dass sich der intrahepatische Widerstand erhöht, woraus sich die portale Hypertension ergibt, zum anderen wird die Stoffwechselfunktion der Leber durch das vermehrte Shunt-Volumen beeinträchtigt. Auch das Entstehen eines Hepatozellulären Karzinoms (HCC) stellt eine wichtige Folge dar. [1, 2] Folgende Abbildung (Abb.1) zeigt schematisch histologische Strukturen einer gesunden Leber im Vergleich mit den Veränderungen bei Zirrhose.

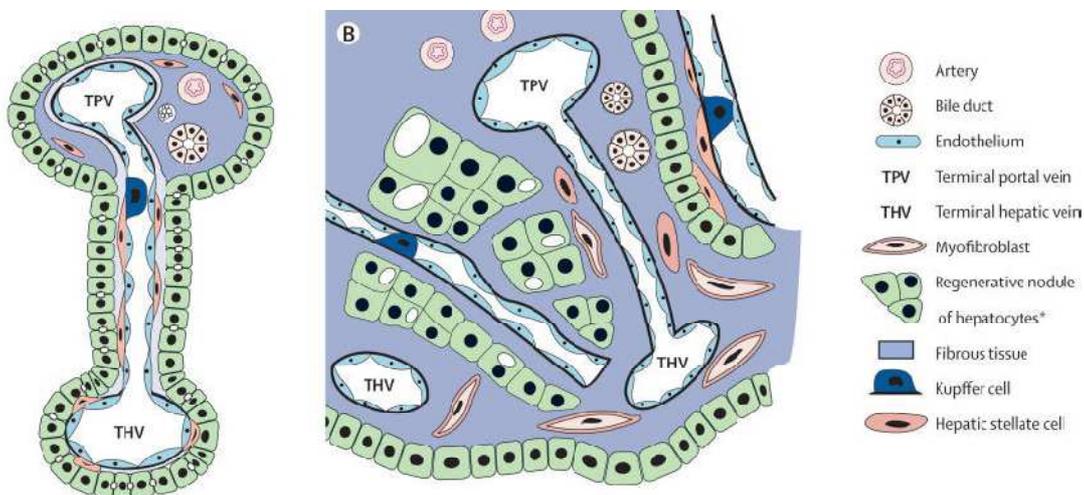


Abbildung 1: links: Normalzustand; rechts: vaskuläre und architektonische Veränderungen bei Leberzirrhose, modifiziert nach Schuppan et al. [1]

## 4.2 Komplikationen

### 4.2.1 Portale Hypertension

Die Leber besitzt über die Arteria hepatica einen arteriellen und über die Vena portae hepatis einen venösen Zufluss. Den größeren Anteil (ca. 66%) erhält sie dabei über die Portalvene, in der normalerweise ein Druck von 3-6 mmHg vorherrscht.

Die Ursachen für eine portale Hypertension werden nach ihrer anatomischen Lage in prähepatische, intrahepatische und posthepatische eingeteilt. Zu den

prähepatischen Ursachen gehören z.B. die Pfortader-, Milzvenen-, und Mesenterialvenenthrombose, zu den intrahepatischen vor allem die Leberzirrhose und zu den posthepatischen das Budd-Chiari-Syndrom. [3]

Bei der Leberzirrhose ergibt sich aus dem histoarchitektonischen Umbau ein erhöhter Flusswiderstand, der sich als erhöhter portaler Druckgradient (portal pressure gradient, PPG), der eine Druckdifferenz zwischen Portalvene und Vena cava inferior darstellt, messen lässt. Normwerte liegen zwischen 1 und 5 mmHg. Da diese Methode allerdings mit erheblichen Komplikationen, vor allem intraperitonealen Blutungen, vergesellschaftet ist, wird heute die Messung des HVP (hepatic venous pressure gradient) bevorzugt. Dieser lässt sich aus der Differenz zwischen WHVP (wedge hepatic venous pressure) und FHVP (free hepatic venous pressure) ermitteln. Dahinter verbirgt sich die Idee, dass bei Blockade der Lebervene durch einen Katheter, die sich davor aufbauende Blutsäule den Druck aus dem vorangeschalteten Gefäßbett, in diesem Fall aus den Lebersinusoiden, weiterleitet. Dabei sind Werte zwischen 6-9 mmHg subklinisch und ab 10 mmHg klinisch signifikant. [3, 4]

Neben den oben beschriebenen strukturellen Veränderungen der Leber gibt es auch noch eine dynamische Komponente, die ca. 30% des erhöhten Widerstandes ausmacht und sich aus einer vaskulären Dysfunktion ergibt. Dabei spielt die vermehrte Produktion von Vasokonstriktoren, wie Thromboxan A<sub>2</sub>, Endothelin, Angiotensin-II und Noradrenalin, bei gleichzeitig verminderter Produktion von Vasodilatoren, wie Stickstoffmonoxid, die entscheidende Rolle. Im fortgeschrittenen Stadium kommt dann eine vermehrte Produktion von Vasodilatoren im Splanchnikusgebiet hinzu, was die Ausbildung von Kollateralen und den damit einhergehenden Komplikationen – Aszites, portalhypertensive Gastropathie, Ösophagusvarizen und deren Blutungen, hepatorenales Syndrom und hepatische Enzephalopathie – unterstützt. [3, 4]

Als weitere Komplikation der portalen Hypertension wird häufig auch die Splenomegalie, eine Vergrößerung der Milz, genannt. Dabei ist diese jedoch nur ein wenig sensitiver und unspezifischer Parameter zur Beurteilung des Vorhandenseins einer portalen Hypertension. Gibson et al. konnten in ihrer

Studie an Patienten mit portaler Hypertension nur bei 52% eine definitiv vergrößerte Milz sonographisch darstellen. [5]

Anders stellt sich die Situation dar, wenn zusätzlich zur Milzgröße auch die Lebersteifigkeit, gemessen mittels transienter Elastographie, und die Thrombozytenzahl im peripheren Blut hinzugezogen werden. Berzigotti et al. zeigten in ihrer Studie an Patienten mit kompensierter Leberzirrhose, dass die Kombination oben genannter Parameter eine Identifizierung der Patienten ermöglicht, bei denen am ehesten eine klinisch signifikante portale Hypertension und Ösophagusvarizen vorliegen. [6]

#### **4.2.2 Pathogenese des Aszites und der spontanen bakteriellen Peritonitis**

Bei Patienten mit Leberzirrhose besteht eine ca. 50%ige Wahrscheinlichkeit innerhalb von 10 Jahren eine Komplikation zu entwickeln, wobei die Ausbildung von Aszites am häufigsten ist. [7]

Es gibt mehrere Hypothesen zur Pathophysiologie der Entstehung von Aszites. Darunter findet die „forward“- Theorie heute eine hohe Zustimmung.

Sie besagt, dass das ausschlaggebende Ereignis bei Patienten mit portaler Hypertension eine Vasodilatation der Arterien des Splanchnikus-Gebietes ist. Diese wiederum hat zwei Folgen: zum einem kommt es infolge eines Anstieges des Druckes in den Kapillaren des Splanchnikus-Gebietes, zu einer erhöhten Permeabilität eben dieser und damit zu einer vermehrten Lymphproduktion, zum anderen entsteht dadurch ein so genanntes „underfilling“, eine Art relativer Volumenmangel, im systemisch arteriellen Kreislauf, was zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und des sympathischen Nervensystems (SNS) führt und eine Ausschüttung von antidiuretischem Hormon (ADH) bewirkt. Dadurch werden sowohl Wasser als auch Natrium im Körper zurückgehalten, sowie der Gefäßwiderstand erhöht. [8, 9] Weiterhin spielt auch die eingeschränkte Rückresorptionsrate der Lymphe über die Lymphgefäße des Peritoneums eine wichtige Rolle. [9]

Die folgende Abbildung (Abb. 2) zeigt die pathophysiologischen Mechanismen der Aszitesentstehung.

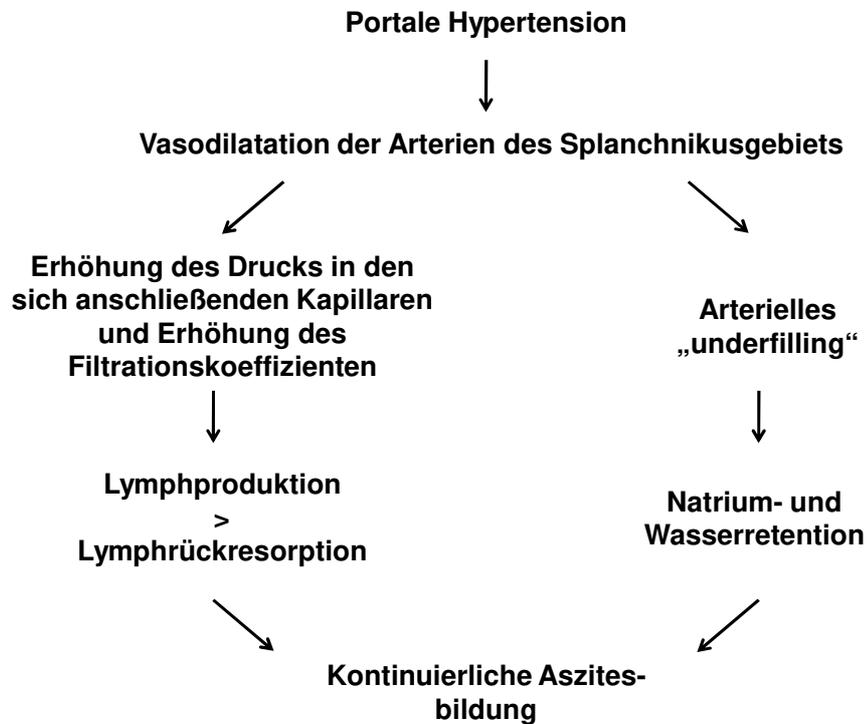


Abbildung 2: Die „forward“-Theorie der Aszitesentstehung modifiziert nach Arroyo et al. [9]

Die spontane bakterielle Peritonitis (SBP) ist eine Infektion des Aszites ohne Infektfokus. [10] Bei einem Nachweis von mehr als 250 neutrophilen Granulozyten (polymorphonukleären Zellen (PMN-Zellen)) pro  $\mu\text{l}$  kann die Diagnose gestellt werden. [11] Jedoch kann auch bei weniger als 250 neutrophilen Granulozyten pro  $\mu\text{l}$  ein so genannter Bakteraszites diagnostiziert werden, falls eine bakterielle Kolonisation des Aszites nachgewiesen werden kann. [11]

Die Prävalenz der spontanen bakteriellen Peritonitis bei stationär aufgenommenen Patienten mit Leberzirrhose und Aszites schwankt zwischen 10% und 30%, wobei die eine Hälfte bereits bei Aufnahme eine SBP zeigt und die andere Hälfte eine SBP im Verlauf des Aufenthaltes entwickelt. [12] In einer

Studie von Evans et al. liegt die Prävalenz bei ambulanten Patienten bei 3,5%. [13]

Die spontane bakterielle Peritonitis, der Harnwegsinfekt und die Pneumonie sind bei Patienten mit Leberzirrhose die häufigsten Infektionen. In 80% der Fälle sind gram-negative Bakterien, vor allem E. coli, nachzuweisen, was nahelegt, dass der Ursprung dieser Komplikationen im Bereich des Darmes zu suchen ist. Eine gängige Hypothese zur Entstehung der SBP oder auch Bakteriämie bei Patienten mit Leberzirrhose ist daher die Passage von Bakterien aus dem Lumen des Darmes durch die Darmwand zu mesenterialen Lymphknoten (mesenteric lymph nodes, MLN). [14] Dieser als „Bakterielle Translokation“ bezeichnete Mechanismus wurde 1979 zum ersten Mal von Berg und Garlington beschrieben. [15]

Neben einem vermehrten Bakterienwachstum (small intestinal bacterial overgrowth, SIBO), spielen hauptsächlich die erhöhte Permeabilität der Darmwand und immunologische Veränderungen eine entscheidende Rolle in der Pathophysiologie der bakteriellen Translokation. [14]

Die Prognose für Patienten mit einer durchgemachten Episode einer SBP ist mit einer durchschnittlichen Lebenserwartung von 30-50% nach einem Jahr und 25-30% nach zwei Jahren schlecht. [12]

#### **4.2.3 Ösophagusvarizen und portal-hypertensive Gastropathie**

Der entscheidende Pathomechanismus der Entstehung von Ösophagusvarizen und der portal-hypertensiven Gastropathie ist die portale Hypertension. Durch den erhöhten Widerstand im Gefäßbett der Leber ist der physiologische Fluss des Blutes behindert, sodass es sich über porto-cavale Anastomosen, und damit u.a. auch über Venen der Speiseröhre und des Magens neue Abflusswege um die Leber herum sucht.

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung haben bereits 60% der Patienten mit Leberzirrhose Ösophagusvarizen unterschiedlichen Grades. Bei den Patienten, die noch keine Ösophagusvarizen haben, besteht eine jährliche

Wahrscheinlichkeit von 5% sie zu entwickeln, weshalb ein Screening alle 2 bis 3 Jahre sinnvoll ist. [16]

Von klinischer Bedeutung ist die Untersuchung auf das Vorhandensein von Ösophagusvarizen, da Patienten, bei denen noch kein Blutungsereignis stattgefunden hat, ein solches mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 30% auftreten wird, wobei die Mortalitätsrate innerhalb von 6 Wochen bei 50% liegt. [17]

Goldstandard für die Diagnose der Ösophagusvarizen ist die Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD), da nicht-invasive Methoden, wie z.B. die PC/SD-ratio (platelet count/spleen diameter) oder der APRI (aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index), die bisher nur in einzelnen, kleineren Studien untersucht wurden, eine zu niedrige Sensitivität und Spezifität für das Screening auf Ösophagusvarizen zeigten. [18-20]

Weitere Details zu PC/SD-ratio und APRI als prädiktive Parameter für das Auftreten von Komplikationen bei Leberzirrhose finden sich unter Kapitel 4.3.2.

#### **4.2.4 Renale Veränderungen bei Leberzirrhose und hepatorenales Syndrom**

Die wichtigsten renalen Veränderungen bei Patienten mit Leberzirrhose sind die verminderte Fähigkeit Natrium und freies Wasser auszuschcheiden, sowie eine reduzierte renale Perfusion und eine reduzierte GFR. [9, 21]

Nach Arroyo et al. [9] kann der klinische Verlauf bezüglich des Auftretens von Komplikationen, wie Natrium-Retention, Verdünnungshyponatriämie und Hepatorenales Syndrom in verschiedene Phasen eingeteilt werden:

In Phase I tritt bei kompensierter Zirrhose ein geringfügig gestörter Natrium-Stoffwechsel auf, bei normaler Perfusion der Nieren und GFR, sowie normaler Wasser- und Natriumausscheidung. Zu erkennen sind die Störungen z.B. nach NaCl-Infusion, da hier die erhöhte Natriumzufuhr nicht durch eine gesteigerte Natriuresis ausgeglichen werden kann. [22]

In Phase II wird das mit der Nahrung aufgenommene Natrium nicht mehr ausgeschieden, wobei noch keine Aktivierung von Sympatischen Nervensystem (SNS) und Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) stattgefunden hat und die renale Perfusion, die GFR und die Wasserausscheidung immer noch unbeeinträchtigt sind. In diesem Stadium kann durch einen niedrigen Natriumgehalt der aufgenommenen Nahrung das Ungleichgewicht im Natriumhaushalt kompensiert werden. [23, 24] Erhöhte Plasma-Konzentrationen natriuretischer Peptide, wie ANP (atrial natriuretic peptide) und BNP (brain natriuretic peptide) deuten darauf hin, dass ein Mangel dieser Hormone nicht die Ursache für die verminderte Natriumausscheidung ist. [25]

Phase III wird charakterisiert durch eine Stimulation von RAAS und SNS bei erhaltener renaler Perfusion und GFR. Dies hat zur Folge, dass eine Natriumretention über allen Abschnitten des Nephrons – im proximalen Tubulus, der Henle-Schleife und im distalen Tubulus durch das SNS und im distalen Tubulus und Sammelrohr durch Aldosteron – stattfindet. [26, 27] Zusätzlich zur vermehrten Aktivität von RAAS und SNS beeinflusst ein erhöhtes ADH (antidiuretisches Hormon) den arteriellen Blutdruck in dieser Phase der Erkrankung. Alle drei wirken als starke Vasokonstriktoren. Die renale Perfusion kann aber durch eine intrarenale Produktion von Prostaglandinen und Stickstoffmonoxid aufrechterhalten werden. [28] Medikamente, die in diese Systeme eingreifen, können daher zu arterieller Hypotension und akutem Nierenversagen führen. Das erhöhte ADH erklärt auch das Unvermögen in dieser Phase freies Wasser auszuschcheiden. [29]

Das Hepatorenale Syndrom ist ein potentiell reversibles funktionelles Nierenversagen infolge einer schweren renalen Hypoperfusion. Je nach Schweregrad des Nierenversages werden zwei Typen unterschieden.

Typ II ist charakterisiert durch einen moderaten aber kontinuierlichen Verlust der Nierenfunktion mit Serum-Kreatinin Werten zwischen 1,5 und 2,5 mg/dl, unter Ausschluss möglicher anderer Ursachen für das Nierenversagen. Typischerweise ist es mit refraktärem Aszites assoziiert, was dadurch erklärt

---

werden kann, dass die Natrium-Retention hauptsächlich im proximalen Tubulus stattfindet, sodass Diuretika, die distal ansetzen, nicht wirken. [30-32] Da auch die ADH-Konzentration weiterhin stark erhöht ist, entwickelt sich in diesem Stadium meist eine Verdünnungshyponatriämie. [33]

Das Hepatorenale Syndrom Typ I wird definiert als eine Verdopplung der Serum-Kreatinin-Konzentration innerhalb von zwei Wochen auf Werte über 2,5 mg/dl. Es kann zwar spontan auftreten, ist aber oft mit Triggern, wie bakteriellen Infektionen (z.B. SBP), großen operativen Eingriffen oder schweren gastrointestinalen Blutungen, assoziiert. [30]

Die Prognose des Hepatorenalen Syndroms ist mit einem mittleren Überleben von einem Monat bei Typ I und 6,7 Monaten bei Typ II infaust. [34]

### **4.3 Prognose und prädiktive Parameter bei Leberzirrhose**

#### **4.3.1 Prädiktive Faktoren für das Überleben**

In den vergangenen 30 Jahren stellte der Child-Pugh-Score den Goldstandard zur Beurteilung der chronischen Lebererkrankung dar und auch heute noch behauptet er sich als ein weit verbreiteter und beständiger Prädiktor für das Überleben bei Patienten mit Leberzirrhose. [35]

Ursprünglich beinhaltete der Child-Score die beiden Laborparameter Bilirubin und Albumin sowie die drei Variablen Aszites, hepatische Enzephalopathie und Ernährungszustand und war 1964 zur Beurteilung der Resultate nach portocavalen Shunt-Operationen bei portaler Hypertension bei Patienten mit Leberzirrhose entwickelt worden. [36] Ungefähr zehn Jahre später wurde der Child-Score zum Child-Pugh-Score modifiziert, wobei der Ernährungszustand durch die Prothrombinzeit ersetzt wurde. [37]

Die folgende Tabelle (Tab. 1) zeigt den Child-Pugh-Score in seiner modifizierten Form von 1973.

	<b>Punkte</b>	1	2	3
<b>Parameter</b>				
Quick (%)		> 50	30 – 50	< 30
Albumin i.S. (g/dl)		> 3.5	2.8 – 3.5	< 2.8
Bilirubin i.S. (mg/dl)		< 2.0	2.0 – 3.0	> 3.0
Aszites		keiner	mäßig	massiv
Enzephalopathie		keine	Grad I-II	Grad III-IV

**Tabelle 1: Child-Pugh-Score: Child A: 5-6 Punkte, Child B: 7-9 Punkte, Child C: 10-15 Punkte, modifiziert nach Pugh et al. 1973 [37]**

Den jeweiligen Stadien kann dabei eine Ein-Jahres-Überlebensrate zugeordnet werden. In Stadium Child A liegt sie bei ca. 95% - 100%, in Stadium Child B bei ca. 80% und in Stadium Child C bei ca. 45%. [38, 39] Bei der Erhebung des Child-Pugh-Scores stösst man allerdings auf Probleme.

Die Einteilung der Menge an Aszites in drei Stufen, sowie der Einteilung der Enzephalopathie in die verschiedenen Grade unterliegen zu einem gewissen Teil der Subjektivität des Untersuchers. Dabei können beide, sowohl Aszites, als auch hepatische Enzephalopathie, zusätzlich durch verschiedene Therapien, wie Diuretikagabe, Albumininfusion und die Gabe von Laktulose beeinflusst sein. Weiterhin besteht das Problem, dass die in den Score einfließenden Variablen empirisch ausgesucht und die Grenzwerte für Quick, Bilirubin und Albumin willkürlich gesetzt wurden. Daraus ergibt sich zum einen der sog. „ceiling effect“, welcher beschreibt, dass ein Patient mit einem Bilirubin von 3,5 mg/dl bei der Berechnung des Scores genauso viele Punkte bekommen kann, wie ein Patient mit einem Bilirubin von 23 mg/dl und zum anderen der sog. „floor effect“, welcher besagt, dass der Score zwischen unterschiedlich niedrigen Albumin Werten (< 28 g/L) nicht differenziert. Auch Unterschiede zwischen den einzelnen Laboren bei der Bestimmung des Quick-Wertes beeinflussen die Validität des Verfahrens. Ein weiterer Nachteil ist, dass die Nierenfunktion, welche ein etablierter prognostischer Marker für die Leberzirrhose ist, kein Teil des Child-Pugh-Scores

ist. [35] Dabei stellt das Auftreten eines Nierenversagens einen für die Prognose der fortgeschrittenen chronischen Lebererkrankung aussagekräftigen Marker dar. So konnten Fede et al. in ihrem Review von 2012 zeigen, dass Patienten mit Leberzirrhose beim Auftreten eines Nierenversagens ein siebenfach erhöhtes Mortalitätsrisiko innerhalb eines Jahres aufweisen. Die 1-Monatsmortalität lag bei 58% und die mittlere Gesamtmortalität bei 67%. [40]

Im Jahr 2000 wurde von Malinchoc et al. die Grundlage des uns heute bekannten MELD-Scores („model for end-stage liver disease“) beschrieben. In ihrer Studie konnten sie zeigen, dass INR, die Serum-Konzentrationen von Bilirubin und Kreatinin sowie die Ursache der Lebererkrankung geeignete Prädiktoren für das Überleben bei Patienten sind, die sich einer elektiven TIPS Anlage unterzogen. Ein aus diesen Parametern berechneter Score erwies sich bei der Vorhersage der 3-Monats-Mortalität sowohl gegenüber der Child-Pugh-Klassifikation (A,B,C), als auch des Child-Pugh-Scores (5-15) als überlegen. [41]

2001 lieferten Kamath et al. die folgende Formel zur Berechnung des MELD Scores: [42]

$$10 \times (0.957 \times \ln(\text{Serumkreatinin mg/dl}) + 0.378 \times \ln(\text{Bilirubin ges.mg/dl}) + 1.12 \times \ln(\text{INR}) + 0.643).$$

Für die Variablen gilt, dass der niedrigste Wert bei 1 liegt. Zudem darf der Wert für Serumkreatinin nicht höher als 4 sein, um den Einfluss von extrem hohen Werten zu vermindern. Daraus ergeben sich für den MELD-Score Werte zwischen 6 und 40 Punkten, wobei höhere Punktzahlen, ähnlich wie beim Child Pugh Score, eine schlechtere Prognose bedeuten.

Nachdem Wiesner et al. in ihrer Studie mit Patienten der Transplantationsliste erkannten, dass der MELD-Score ausserordentlich genaue Vorhersagen über die Mortalität eben dieser Patienten treffen kann, wurde er 2002 als Grundlage für die Zuteilung von Transplantaten bei allogener Lebertransplantation in den USA

---

eingeführt. Auch in mehreren europäischen Ländern und in Südafrika ist der MELD-Score heute etabliert. [35, 43] Patienten in dieser Studie zeigten bei einem MELD Score  $< 9$  eine 3 Monats-Mortalität von 1,9 %, wohingegen ein Score von 40 mit einer Mortalitätsrate von 71,3 % einherging. [43] Ebenso wie beim Child-Pugh-Score ergeben sich bei der Beurteilung des MELD-Scores verschiedene Probleme. Einerseits konnte gezeigt werden, dass sich der MELD-Score auch zur Einschätzung des 1-Jahres- und 5-Jahres-Überlebens bei einer Vielzahl von Lebererkrankungen, darunter die alkoholische Leberzirrhose, eignet, sowie als Prognose-Marker bei Ösophagusvarizenblutung, SBP und HRS. Andererseits wurde nicht immer ein statistisch signifikanter Unterschied zum Child-Pugh-Score gefunden. [44, 45] Auch die Tatsache, dass der MELD-Score weder mit der subklinischen noch mit der klinisch apparenten hepatischen Enzephalopathie korreliert und somit die Schwere der Erkrankung falsch niedrig einschätzt, stellt einen Nachteil dar. [46, 47] Selbiges gilt für Aszites und Hyponatriämie. [35]

Die Thrombozytenzahl im peripheren Blut scheint als prädiktiver Parameter für die Mortalität geeignet zu sein. Bleibel et al. zeigten in ihrer Studie von 2013 mit Patienten, die auf der Lebertransplantationsliste standen, dass Patienten mit einer Thrombozytenzahl  $< 100\,000/\mu\text{l}$  ein mittleres Überleben von 935 Tagen im Vergleich zu 1369 Tagen bei Patienten mit Thrombozytenzahlen  $> 100\,000/\mu\text{l}$  besaßen. Ohne Lebertransplantation überlebten nur 21% der Patienten mit niedrigen Thrombozytenzahlen den Beobachtungszeitraum von ca. fünf Jahren, wohingegen in der Gruppe mit höheren Thrombozytenzahlen 43% überlebten. Niedrige Thrombozytenzahlen waren dabei assoziiert mit etwas jüngerem Lebensalter, viraler Hepatitis, geringerem Lebervolumen, geringfügig niedrigerem Serumalbumin und höherem MELD-Score. [48]

### 4.3.2 Parameter für das Auftreten von Komplikationen

Doch nicht nur für das Überleben, sondern auch für das erstmalige Auftreten einer ambulant erworbenen SBP bei Patienten mit Leberzirrhose scheint die Thrombozytenzahl ein guter Prognosemarker zu sein. In einer Studie von Guarner et al. zeigte sich eine Thrombozytenzahl  $< 98\ 000/\mu\text{l}$  als ein unabhängiger Prognosemarker hierfür. [49]

Weiterhin konnten Gana et al. in ihrer Studie zeigen, dass die Thrombozytenzahl ein geeigneter Parameter ist, um bei Kindern mit portaler Hypertension die Wahrscheinlichkeit für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen abzuschätzen, wodurch die Indikationstellung zur invasiven Ösophagogastroduodenoskopie verbessert werden kann. [50] Auch Tafarel et al. kommen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass eine Thrombozytenzahl  $< 93 \times 10^9 / \text{l}$  ein unabhängiger Prädiktor für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen ist. [51]

Ein weiterer Parameter, der eine nicht invasive Alternative zur Ösophagogastroduodenoskopie bei der Beurteilung des Vorliegens von Ösophagusvarizen darstellt, ist die platelet-count-spleen-diameter-ratio (PC/SD). Sie wird berechnet als Quotient aus Thrombozytenzahl pro  $\mu\text{l}$  und maximalem Längsdurchmesser der Milz in Millimeter. Giannini et al. konnten in ihrer Studie von 2003 feststellen, dass in einer multivariaten Analyse die PC/SD-ratio der einzige unabhängige Parameter für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen war. Zudem lag der negative prädiktive Wert bei einem Cut-off-Wert von 909 bei 100% und war auch für Patienten mit kompensierter Leberzirrhose reproduzierbar. Daher wurde der PC/SD-ratio eine hohe Bedeutung bei geringen Kosten zugesprochen. [52] González-Ojeda et al. kommen in ihrer Studie von 2014 ebenfalls zu dem Schluss, dass sich die Berechnung der PC/SD-ratio bei Patienten mit Leberzirrhose eignet, um auf das Vorliegen von Ösophagusvarizen zu schließen. Sie konnten bei einem Cut-off-Wert von 884.3 eine Sensitivität von 84% und eine Spezifität von 70% berechnen. [53] Weiterhin berichten Ying et al. in ihrer Metaanalyse über 20 Studien (3063 Patienten) von einer Sensitivität

der PC/SD-ratio von 92% und einer Spezifität von 87% bei der Vorhersage von Ösophagusvarizen bei Patienten mit Leberzirrhose. [54]

Dem gegenüber steht jedoch die Metaanalyse von Chawla et al., in der bei 8 Studien (1275 Patienten) einerseits zwar eine Sensitivität von 89% und eine Spezifität von 74% berechnet werden konnten, bei der andererseits jedoch auch aufgezeigt wurde, dass insgesamt von einem niedrigen Evidenzgrad ausgegangen werden muss. Daraus folgern sie deshalb, dass die PC/SD-ratio in ihrer aktuellen Form mit einem Cut-off-Wert von 909 keinen geeigneten, nicht-invasiven Ersatz für die Ösophagogastroduodenoskopie beim Screening auf Ösophagusvarizen darstellt. [19] Ebenso äußern sich de Mattos et al., die ebenfalls den Zusammenhang von PC/SD-ratio und dem Vorhandensein von Ösophagusvarizen untersuchten, kritisch gegenüber der Verwendung der PC/SD-ratio bei der Suche nach Ösophagusvarizen bei Patienten mit Leberzirrhose, da basierend auf dem Wissenstand von 2012, der auch die Metaanalysen von Ying et al. und Chawla et al. mit einbezieht, keine ausreichende Evidenz bestehe. [55]

Der Aspartat-Aminotransferase-to-platelet-ratio-index (APRI) wurde ursprünglich als eine Methode beschrieben, mit der bei Patienten mit chronischer HCV-Infektion das Vorliegen einer Fibrose oder Zirrhose der Leber beurteilt werden kann. [56] Nachdem sich die PC/SD-ratio als nicht suffizient erwies, versuchten de Mattos et al. einen Zusammenhang zwischen APRI und dem Auftreten von Ösophagusvarizen bei Patienten mit Leberzirrhose zu finden. Aber es zeigte sich, dass sich der APRI bezüglich des Screenings auf Ösophagusvarizen bei Patienten mit Leberzirrhose aufgrund zu niedriger Sensitivität und Spezifität nicht als unabhängiger Faktor eignet. [20]

Einen weiteren interessanten Marker beschrieben Ljubicic et al. in einer kleinen Studie an Patienten mit nutritiv toxischer Leberzirrhose, wobei sie zeigten, dass sich NT-proBNP als Marker für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen eignet. [57] Demgegenüber steht die Arbeit von Yildiz et al., die BNP in Zusammenhang mit der Schwere der Erkrankung bei nicht-alkoholischer

---

Leberzirrhose setzten. Sie konnten keine signifikanten Unterschiede der BNP-Werte bei Patienten mit bzw. ohne Ösophagusvarizen feststellen, jedoch zeigten sich signifikante Unterschiede für Aszites und SBP. [58]

#### **4.4 Bedeutung und Anwendungsbereiche der Immature Platelet Fraction (IPF%)**

In Analogie zu den Retikulozyten der roten Blutreihe beschreibt der Begriff „reticulated platelets“ unreife Thrombozyten aus dem Knochenmark, die noch etwas größer und reaktiver sind und Reste von RNA enthalten. [59] Dabei spiegelt sinngemäß die Zahl der unreifen Thrombozyten im peripheren Blut die Thrombopoese wieder, mit steigenden Werten bei erhöhter und fallenden Werten bei erniedrigter Thrombozytenproduktion. [60]

1969 wurden von Ingram und Coopersmith die oben genannten „reticulated platelets“ erstmals nach Induktion von akuten Blutverlusten bei Hunden beschrieben und ihre Rolle bei der Beurteilung der Thrombopoese erkannt. [59] Die Tatsache, dass unreife Thrombozyten aufgrund ihrer RNA-Reste mit einer Vielzahl von Stoffen anfärbbar sind, machten sich 1990 Kienast und Schmitz bei der Entwicklung eines durchflusszytometrischen Verfahrens zum Nachweis von Thiazol-orange aufnehmenden Thrombozyten zunutze. [61] 1996 wurde diese Methode von Chavda et al. durch die zusätzliche Verwendung eines gegen CD42 (anti-Glycoprotein Ib konjugiert an Phycoerythrin, ein Fluoreszenzfarbstoff) gerichteten Antikörpers verbessert. [62] Zudem gerieten weitere Parameter wie die Plasma-Bestimmung von Glycocalicin, eines proteolytischen Fragments des Plättchenmembranproteins Glycoprotein Ib $\alpha$ , die Überlebenszeit der Thrombozyten und das Plasma-Thrombopoietin ab Ende der 80er Jahre in den Fokus der Untersuchungen. [63, 64] Diese Methoden waren jedoch zu dieser Zeit den Forschungseinrichtungen vorbehalten und im klinischen Alltag nicht zu realisieren.

Heute stellt die Bestimmung der Immature Platelet Fraction (IPF%) – eine Quantifizierung der „reticulated platelets“ als prozentualen Anteil der Gesamtthrombozytenzahl durch ein vollautomatisches Analysegerät – aufgrund ihrer schnellen und günstigen Verfügbarkeit einen wichtigen, neuen Parameter zur Beurteilung verschiedener Erkrankungen wie der Thrombozytopenie, bakterieller Infektionen und des Akuten-Koronar-Syndroms dar. Auf Letztere wird im Folgenden kurz eingegangen, wobei den Zusammenhängen zwischen Thrombozytopenie, IPF% und der Leberzirrhose ein eigenes Kapitel (4.5) gewidmet ist.

Details zur Bestimmung von IPF% im Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes finden sich unter Kapitel 5.3: Bestimmung von IPF% und Thrombopoietin.

Ein interessanter Aspekt ist die Bestimmung von IPF% zur Identifikation von Patienten mit bakteriellen Infektionen. Di Mario et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass bei Patienten mit Leukozytose ( $>8 \times 10^9/l$ ) und normaler Thrombozytenzahl ( $>150 \times 10^9/l$ ) signifikant höhere Werte an IPF% bei gleichzeitig bestehender positiver bakterieller Blutkultur zu messen sind. [65] De Blasi et al. zeigten, dass die Werte von IPF% bei Patienten, die ohne Sepsis auf eine Intensivstation verlegt werden, ansteigen bevor sich eine manifeste Sepsis ausbildet, und dass IPF% im Gegensatz zu den gebräuchlichen Entzündungs- und Infektionsmarkern Procalcitonin und CRP nicht mit den klinischen Sepsis-Kriterien korreliert, sondern mit der Entstehungswahrscheinlichkeit einer Sepsis. Sie beurteilen die Bestimmung von IPF% daher als nützlichen prädiktiven Faktor, der im klinischen Alltag zusätzliche Informationen liefert. [66]

Auch beim Akuten-Koronar-Syndrom (ACS), vor allem in der akuten Phase des STEMI, sind signifikant erhöhte Werte von IPF% zu verzeichnen. Aufgrund dessen und der Tatsache, dass in unreifen Thrombozyten eine erhöhte Expression der Cyclooxygenase-2 und damit Bildung von Thromboxan A<sub>2</sub> stattfindet, vermehrt Thrombozytenaggregations-fördernde Oberflächenproteine

---

gebildet werden und die Wirkung von Aspirin daher eingeschränkt ist, schreiben Grove et al. den unreifen Thrombozyten eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie des Akuten-Koronar-Syndroms zu. [67, 68] Auch konnten sie zeigen, dass bei aktiven Rauchern im Vergleich zu Nicht-Rauchern die IPF%-Werte um 18% erhöht, und dass bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern die IPF%-Werte um 16% erhöht waren. [68] Desweiteren zeigten Cesari et al., dass IPF% als unabhängiger prädiktiver Wert für das Versterben innerhalb eines Jahres bei Patienten mit ACS genutzt werden kann. Daher postulieren sie einen klinischen Nutzen der IPF% Bestimmung bei der Risikostratifizierung von ACS-Patienten, die im Verlauf einer intensiveren Sekundärprophylaxe zugeführt werden sollten. [69]

#### **4.5 Thrombozyten, Thrombopoietin und IPF% bei Leberzirrhose**

Die Leber ist ein wichtiger Syntheseort für Gerinnungsfaktoren – ausgenommen Faktor III (Gewebefaktor) – sowie für einen Großteil der körpereigenen Antikoagulanzen wie Antithrombin III, Protein C und Protein S. Auch Plasminogen, das Vorläuferprotein des Plasmin, ein fibrinolytisch wirkendes Enzym, sowie dessen Inhibitor, das  $\alpha_2$  – Antiplasmin, werden in der Leber gebildet. Gerinnungsstörungen bei Patienten mit akuter oder chronischer Lebererkrankung ergeben sich durch eine verminderte Produktion von Gerinnungsfaktoren und deren Inhibitoren, eine reduzierte Clearance der aktivierten Faktoren durch das retikuloendotheliale System, einen Mangel oder eine Funktionsstörung der Thrombozyten oder durch Hyperfibrinolyse. [70] Dadurch lässt sich erahnen, dass bei Leberzirrhose-Patienten diverse Komplikationen, auch speziell bei Durchführung invasiver diagnostischer und therapeutischer Interventionen, Einfluss auf die Morbidität und Mortalität nehmen.

Aber nicht nur die plasmatische, sondern auch die zelluläre Gerinnung ist durch die Leberfunktionsstörung beeinträchtigt. Grund hierfür ist, dass in erster Linie die Leber, neben Niere und Knochenmarkstroma [71], Thrombopoietin

---

synthetisiert, welches über seinen Rezeptor (c-Mpl), der an der Oberfläche von Stammzellen, Megakaryozyten-Progenitorzellen, Megakaryozyten und Thrombozyten exprimiert wird, und über den JAK-STAT Signaltransduktionweg als Wachstums- und Differenzierungsfaktor dient. [72] Thrombopoietin wird nach Wendling et al. kontinuierlich produziert, wobei es im Blut einer Regulation durch auf den Thrombozyten exprimiertem c-MPL unterliegt, welches durch Bindung zu Internalisation und Abbau führt. [73] Dabei besteht zwischen den Plasmawerten von Thrombopoietin und der Menge an Megakaryozyten und Thrombozyten eine umgekehrte Proportionalität. [74] Der Referenzbereich für das Plasma-Thrombopoietin wird von Herklotz et al. mit 70 bis 100 ng/l angegeben. [75] Diese Angabe war jedoch die einzige bei der Literaturrecherche zu ermittelnde und entzieht sich damit einer weiteren Validierung.

Eine Theorie zur Entstehung einer Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose ist eine Leberfunktionsstörung mit verminderter Thrombopoietin-Synthese. Goulis et al. zeigten in ihrer Studie an Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose, dass die Thrombopoietin-Werte bei Patienten mit Thrombozytopenie signifikant niedriger waren, als bei Patienten ohne Thrombozytopenie. Zudem zeigten Patienten ohne Thrombozytopenie ähnliche Thrombopoietin-Werte wie die Kontrollgruppe, wohingegen Patienten mit Thrombozytopenie signifikant niedrigere Thrombopoietin-Werte aufwiesen. Weiterhin konnten sie einen steilen Anstieg der Thrombopoietin-Konzentrationen nach erfolgter Lebertransplantation bei Patienten mit Leberzirrhose und Thrombozytopenie feststellen. Auch Peck-Radosavljevic et al. zeigten einen Anstieg der Thrombopoietin-Konzentrationen nach Lebertransplantation. [72, 76-78]

In der Arbeit von Temel et al. zeigten Patienten mit Leberzirrhose im Mittel jedoch höhere Thrombopoietin-Werte, als die Kontrollgruppe. Zudem konnten sie keinen Zusammenhang zwischen dem Serum-Thrombopoietin-Wert und dem Grad der Leberzirrhose nach Child-Pugh erkennen. Jedoch konnten sie signifikant höhere Thrombopoietin-Werte bei Patienten mit Thrombozytopenie

---

im Vergleich zu Patienten ohne Thrombozytopenie feststellen, was den Ergebnissen von Goulis et al. widerspricht. [79]

Auch Schöffski et al. konnten keine Verminderung der Thrombopoietin-Werte bei Leberkranken im Vergleich zu gesunden Kontrollen feststellen und keinen Zusammenhang mit dem Grad einer Leberzirrhose oder der Thrombozytenzahl finden, dafür aber im Fall des Vorliegens einer chronischen Virushepatitis stark erhöhte Thrombopoietin-Konzentrationen nachweisen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine Interaktion des Virus in den Hepatozyten auf transskriptionaler oder translationaler Ebene sein, oder aber die körpereigene Immunantwort auf die chronische Inflammation bei viraler Hepatitis könnte im Sinne einer akuten-Phase-Reaktion die Synthese und den Abbau von Thrombopoietin beeinflussen. Aufgrund ihrer Ergebnisse schließen Schöffski et al., dass es unwahrscheinlich ist, dass die mit einer Lebererkrankung einhergehende Thrombozytopenie auf eine unzureichende Thrombopoietin-Synthese in den Hepatozyten zurückzuführen ist. [80]

Tacke et al. haben den Zusammenhang zwischen den Serum-Thrombopoietin-Konzentrationen bei verschiedenen Ätiologien der Leberzirrhose und der Expression von Thrombopoietin-mRNA in Lebergewebeproben untersucht. Auch sie fanden erhöhte Thrombopoietin-Werte bei Patienten mit viraler Hepatitis. Jedoch zeigten sich beim Vergleich der verschiedenen Ätiologien der Leberzirrhose keine Unterschiede der TPO-mRNA-Expression. Es zeigten sich auch keine Unterschiede zu Lebergesunden und es wurde kein Zusammenhang zwischen der TPO-mRNA-Expression und der Serum-TPO-Konzentration gefunden. Sie schließen daraus, dass die Expression von Thrombopoietin auf einem festgelegten Level stattfindet und sich nicht zwischen den Ätiologien der Leberzirrhose unterscheidet. [81]

Eine kürzlich veröffentlichte Studie von Grozovsky et al. [82] beschreibt detailliert den physiologischen feedback-Regulationsprozess zwischen gealterten Thrombozyten und der TPO-mRNA Expression in der Leber über den Ashwell-Morell Rezeptor (AMR) und einen JAK2-STAT3 Signaltransduktionsweg. Der Ashwell-Morell Rezeptor ist ein transmembraner Glycoproteinkomplex dessen

---

regulatorische Prozesse bisher unklar waren. Es konnte nun gezeigt werden, dass der Verlust von Sialinsäure, einem Monosaccharid der Thrombozytenoberfläche, zur Entfernung von Thrombozyten aus dem Blut über den AMR führt. Im Mausmodell hatten AMR defiziente Mäuse um 50% erhöhte Thrombozytenzahlen, wobei die Thrombozyten zudem eine um 35% verlängerte Lebenszeit aufwiesen. Das Thrombozytenvolumen und IPF% waren passend dazu vermindert. Weiterhin zeigten Mäuse mit einem Sialinsäuretransferase-Mangel und damit wenig sialysierten Thrombozyten eine ausgeprägte Thrombozytopenie aufgrund des schnellen Abbaus durch den AMR. Dabei waren Thrombozytenvolumen und IPF% erhöht. Die These einer kontinuierlichen TPO Synthese muss dadurch angezweifelt und überprüft werden. Dies bedeutet auch, dass die oben beschriebenen Zusammenhänge zwischen TPO-Serumkonzentration und c-MPL die Sachlage nicht ausreichend erklären. Vielmehr führt die Internalisierung über c-MPL zu einer Feinregulation der TPO-Serumkonzentration.

Es stellt sich infolge dessen die Frage, wie sich die Funktion des AMR bei Patienten mit Leberzirrhose verändert und ob eine veränderte Funktion der Sialinsäuretransferase besteht.

Die Zusammenhänge zwischen dem Vorliegen einer Leberzirrhose und einer Thrombozytopenie beschreiben Bashour et al. in ihrer Studie aus dem Jahr 2000. Sie konnten zeigen, dass 64% der Patienten mit Leberzirrhose eine Thrombozytopenie ( $<150,000 / \mu\text{l}$ ) aufwiesen und dass die Wahrscheinlichkeit für eine Thrombozytopenie mit Werten  $< 100,000 / \mu\text{l}$  bei Patienten mit Leberzirrhose im Vergleich zu Patienten ohne Leberzirrhose um den Faktor 12 erhöht ist. [83] Auch Udell et al. zeigten 2012 in einer Meta-Analyse über 86 Studien, dass unter anderem eine Thrombozytenzahl  $< 160,000 / \mu\text{l}$  neben dem Vorhandensein von Aszites oder Spider Naevi und mit einer hohen Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Leberzirrhose korreliert. [84] Ursächlich für die Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose können mehrere Faktoren sein, wie z.B. eine vermehrte Sequestration in der Milz, eine

reduzierte Synthese bzw. Aktivität des Thrombopoietins, eine Knochenmarksuppression durch eine chronische HCV Infektion, aber auch eine antivirale Therapie mit Interferon. [72]

Zur Differenzialdiagnose der Thrombozytopenie, welche eine häufige hämatologische Störung ist, die in manchen Fällen mit schweren Blutungen einhergeht, kann heute die Bestimmung von IPF% herangezogen werden. [85] Die zahlreichen Ursachen der Thrombozytopenie, die die Differentialdiagnose erschweren, lassen sich ganz allgemein in zwei Gruppen einteilen: zum einen verminderte Produktion neuer Thrombozyten (z.B. Aplastische Anämie, post-Chemotherapie) und zum anderen vermehrte Sequestration oder beschleunigter Verbrauch von Thrombozyten (z.B. disseminierte intravasale Gerinnung, thrombotisch thrombozytopenische Purpura, Immunthrombozytopenie). Sinnvoll ist diese Unterscheidung auch hinsichtlich des Blutungsrisikos, da bei Thrombozytopenien auf Grundlage einer Knochenmarksdysfunktion die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Blutung höher ist, als bei Thrombozytopenien, welche durch vermehrten peripheren Verbrauch entstehen, unabhängig von der Thrombozytenzahl im Blut, sofern keine Infektion vorliegt. [86]

Um nicht jeden Patienten zur Differentialdiagnose der Thrombozytopenie einer Knochenmarkspunktion unterziehen zu müssen sind daher wenig invasive und schmerzfreie Verfahren, wie die Bestimmung von IPF%, von hohem Stellenwert. Erhöhte IPF%-Werte sind bei peripherem Verbrauch oder Verlust z.B. bei Immunthrombozytopenie (ITP) und thrombotisch thrombozytopenischer Purpura (TTP) zu verzeichnen, wohingegen Knochenmarksschäden z.B. nach Chemotherapie mit erniedrigten Werten einhergehen. [87]

Speziell bei der Beurteilung der Regeneration des Knochenmarkes bei Patienten mit Malignomen nach Chemotherapie, nach autologer und allogener Knochenmarkstransplantation und nach Lebertransplantation erleichtert die Bestimmung der IPF% die Abschätzung der Notwendigkeit zur Transfusion von

---

Thrombozytenkonzentraten. [88-90] Nach einer Lebertransplantation sinkt die Thrombozytenzahl zunächst und erreicht ihren Tiefstwert ungefähr am fünften Tag postoperativ, um dann im Verlauf wieder in den Normbereich zurückzukehren. Gleichzeitig steigen die IPF%-Werte postoperativ bis zum fünften Tag an und erreichen dort ihren Spitzenwert. Im Mittel erreichte die Thrombozytenzahl drei bis vier Tage nach dem IPF%-Spitzenwert wieder den Normbereich. [91, 92] Die Thrombopoietin-Werte verhalten sich ähnlich der IPF%-Werte und steigen nach der Transplantation bis ungefähr zum vierten oder fünften Tag an, um danach unter die Nachweisgrenze zu sinken. [76] Lesurtel et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass Thrombozytenzahlen  $< 60 \times 10^9 / l$  am fünften Tag nach Lebertransplantation mit schweren Komplikationen sowie dem Transplantat-Überleben und dem Patienten-Überleben assoziiert waren. [93] Daher ist die Bestimmung von IPF% sinnvoll zur Beurteilung der Zeit bis zur Normalisierung der Thrombozytenzahl nach Lebertransplantation. [91]

Einen Zusammenhang zwischen IPF% und dem Vorliegen einer Leberzirrhose beschreiben Nomura et al. Ziel der Studie war es die Bedeutung der Bestimmung der Immature Platelet Fraction, als schnelle und gering-invasive Methode, zur Differenzierung verschiedener chronischer Lebererkrankungen bei Patienten mit gestörter Leberfunktion und Thrombozytopenie zu evaluieren. Dazu wurden die Werte für die absolute Anzahl an reifen und unreifen (a-IPF) Thrombozyten sowie IPF% bei Patienten mit Leberzirrhose, mit chronischer Hepatitis und mit Fettleber, sowie bei Lebergesunden und einer zusätzlichen Kontroll-Gruppe bestimmt und miteinander verglichen. Die Kontroll-Gruppe zeigte einen Referenzbereich für IPF% von 0,7% - 7,3%. Bei Patienten mit Leberzirrhose waren sowohl die Gesamtzahl an Thrombozyten, als auch die absolute Anzahl der unreifen Thrombozyten (a-IPF) im Vergleich zu allen anderen Gruppen signifikant vermindert. Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe und den Lebergesunden war IPF% bei Leberzirrhose signifikant erhöht, jedoch nicht im Vergleich zur chronischen Hepatitis und zur Fettleber. Dies bedeutet, dass es keine signifikanten Unterschiede von IPF% zwischen den einzelnen

Lebererkrankungen gibt. Auch zeigte sich nur bei Gesunden und Patienten mit chronischer Hepatitis eine inverse Korrelation der Gesamtthrombozytenzahl zu IPF%, nicht jedoch bei Leberzirrhose. Zur Unterscheidung zwischen chronischer Hepatitis und Leberzirrhose wurde mittels multivariater Diskriminanzanalyse eine mathematische Gleichung auf Basis von Gesamtthrombozytenzahl und IPF% erstellt, mit deren Hilfe 19 von 20 (95%) Patienten mit Leberzirrhose in die richtige Gruppe eingeteilt werden konnten bei einer Spezifität von 64,3%.

Aufgrund dieser Ergebnisse sprechen Nomura et al. der IPF%-Bestimmung bei der Entwicklung nicht invasiver diagnostischer Untersuchungen für verschiedene Lebererkrankungen einen zusätzlichen Nutzen zu. [94]

#### 4.6 Fragestellungen der Studie

1. Lässt sich durch die gemeinsame Beurteilung von IPF%, Thrombopoietin und dem Längsdurchmesser der Milz die Ursache der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose eingrenzen?
2. Gibt es einen Zusammenhang zwischen Thrombozytenzahl, IPF%, Thrombopoietin, dem Längsdurchmesser der Milz und dem Grad der Leberzirrhose?
3. Gibt es Zusammenhänge zwischen Thrombozytenzahl, IPF%, Thrombopoietin, dem Längsdurchmesser der Milz und dem Auftreten von Ösophagusvarizen, Aszites, einer SBP oder eines HRS?
4. Eignet sich die Bestimmung von IPF% als prädiktiver Parameter für die Mortalität bei Patienten mit Leberzirrhose?

## 5. Methodenteil

### 5.1 Patienten

88 stationäre Patienten mit Leberzirrhose wurden in die Studie im Zeitraum von März 2013 bis Januar 2014 aufgenommen. Darunter waren 30 Frauen und 58 Männer. Im Folgenden wird der Terminus Patient gleichbedeutend für Frauen und Männer benutzt.

Einschlusskriterien der Studie waren:

- Leberzirrhose
- Alter >18
- Unterschriebene Einverständniserklärung

Ausschlusskriterien waren:

- Keine Leberzirrhose
- Alter <18
- Keine unterschriebene Einverständniserklärung
- Akute Ösophagusvarizenblutung
- Erkrankung des Knochenmarkes
- Tumorerkrankung mit Radio- und/oder Chemotherapie, ausgenommen HCC (lokal-begrenzt, nicht metastasiert)

Vor der Durchführung wurde die Studie von der Ethikkommission der Saarländischen Ärztekammer genehmigt.

Nach einer Aufklärung über den Ablauf der Studie sowie dem Unterzeichnen der Einverständniserklärung wurden folgende Parameter klinisch und anamnestisch erfasst:

- Aufnahmedatum in die Studie
- Alter und Geschlecht
- Ätiologie der Leberzirrhose

- 
- Vorliegen einer Immunthrombozytopenie (ITP, M. Werlhof)
  - Akut oder Zustand nach:
    - o Aszites
    - o Ösophagusvarizen
    - o Hepatorenales Syndrom
  - Ausprägungsgrad des Aszites sonographisch (gering, mäßig, massiv)
  - Ösophagusvarizen Grad (ÖGD in den letzten 6 Monaten)
  - Aktuelle Infektion: insbesondere spontane bakterielle Peritonitis, Harnwegsinfekt, Pneumonie
  - Längsdurchmesser der Milz
  - Sonstige Erkrankungen

## 5.2 Laborchemische Parameter

Die laborchemische Untersuchung der unten aufgeführten Parameter erfolgte im Zentrallabor des Universitätsklinikums. Dazu wurde eine periphere Vene unter Verwendung je einer EDTA-, einer Serum-, einer Li-Heparin- und einer Citrat-Monovette (Sarstedt, Nümbrecht) punktiert. Zusätzlich wurden jeweils zwei Serum- und zwei EDTA- Monovetten zur Lagerung bei - 80 °C, sowie 20 ml Blut zur Beimpfung je einer aeroben und einer anaeroben Blutkulturflasche entnommen. Die Blutkulturen wurden durch das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums analysiert.

Bestimmt wurde:

- o Erythrozytenzahl, Hb, Hkt, MCH, MCHC, MCV
- o Thrombozytenzahl, Retikulozyten, MPV, IPF%
- o Leukozytenzahl, Differentialblutbild, CRP, Procalcitonin
- o Natrium, Kalium, Kalzium, Kreatinin, Kreatinin-GFR, Harnstoff, Cystatin C, CystatinC-GFR, Albumin

- 
- Glukose, ALAT(GPT), gamma-GT, alkalische Phosphatase, Bilirubin gesamt, Lipase, LDH
  - Quick, INR, PTT, Fibrinogen
  - Nt-pro-BNP

Als Thrombozytopenie wird im Folgenden eine Thrombozytenzahl  $< 150.000 / \mu\text{l}$  definiert. Zudem wurden die Patienten mit Thrombozytopenie nach dem Schweregrad in drei Gruppen eingeteilt. In Gruppe I wurden Patienten mit schwerer Thrombozytopenie ( $< 50 \times 10^9 / \text{l}$ ) zusammengefasst, in Gruppe II Patienten mit moderater Thrombozytopenie ( $50 - 100 \times 10^9 / \text{l}$ ) und in Gruppe III Patienten mit milder Thrombozytopenie ( $101 - 150 \times 10^9 / \text{l}$ ).

Weiterhin wurde bei ausreichend langer stationärer Aufenthaltsdauer ein 24-Stunden Sammelurin auf Konzentrationen von Natrium, Kalium, Kreatinin, Eiweiß und Albumin untersucht.

### 5.3 Bestimmung von IPF% und Thrombopoietin

Eine Methode zur Quantifizierung der „reticulated Platelets“ ist die Analyse von EDTA-Blut im vollautomatischen Analysegerät XE-5000 von Sysmex. Das zugrunde liegende Prinzip ist die Anfärbarkeit der RNA-Reste in den unreifen Thrombozyten mit Färbemitteln, die Polymethine und Oxazine enthalten. Bei der darauffolgenden Durchflusszytometrie wird das Vorwärtsstreulicht gegen die Fluoreszenz aufgetragen. Dabei unterscheidet ein Computer-Algorithmus zwischen reifen und unreifen Thrombozyten.

Der Referenzbereich für IPF% wird von verschiedenen Autoren ähnlich angegeben und liegt bei gesunden Probanden nach Briggs et al. zwischen 1,1% und 6,1% (Mittelwert 3,4%) [87], nach Jung et al. für Männer bei 0,5 - 3,2% und für Frauen bei 0,4 - 3,0% [95] und nach Ko et al. bei 0,5 - 3,3% [96].

Die Bestimmung der Thrombopoietin-Konzentration im Serum wurde mit Hilfe des „Human Thrombopoietin Quantikine® ELISA Kit“ von R&D Systems® durchgeführt. Dazu wurden die Proben zunächst bei - 80 °C gelagert.

Das Verfahren beruht auf dem Prinzip eines quantitativen Sandwich-Enzym-Immunoassays.

Auf einer Microplate befindet sich ein fixierter monoklonaler Antikörper, der spezifisch an TPO bindet. Als Erstes werden nun die Proben und Kontrollen in die einzelnen Wells pipettiert, sodass das vorhandene TPO an die Antikörper binden kann. Darauf folgt ein Waschschrift, der alle nicht gebundenen Substanzen entfernt. Als nächstes wird ein enzymgebundener polyklonaler Antikörper, der ebenfalls spezifisch für TPO ist, hinzugegeben. Nach einem weiteren Waschschrift zur Entfernung verbleibender Enzymreste wird eine Substratlösung hinzugegeben und ein Farbumschlag wahrgenommen. Die Menge an initial gebundenem TPO ist dabei proportional zur Farbintensität, die nun gemessen wird.

Der Referenzbereich für das Plasma-Thrombopoietin liegt bei 70 bis 100 ng/l. [75]

#### **5.4 Methoden zur Diagnostik der Leberzirrhose und damit assoziierter Veränderungen**

Als nicht-invasive Verfahren zur Untersuchung der Leber auf Zeichen einer Leberzirrhose und zur Einteilung des Erkrankungsfortschrittes wurden eine Sonographie des Abdomens und eine transiente Elastographie (FibroScan®) durchgeführt. Zusätzlich wurden der Child-Pugh-Score und MELD-Score berechnet.

Die Größe der Milz wurde entweder im Rahmen der Abdomensonographie oder aus CT- oder MRT-Abdomen Untersuchungen ermittelt. Von Splenomegalie wird im Folgenden bei einem Längsdurchmesser von >110 mm gesprochen.

Eine diagnostische oder therapeutische Aszitespunktion wurde standardgemäß bei Aszitesnachweis durchgeführt. Dazu wurde zunächst sonographisch die Punktionsstelle aufgesucht und markiert und anschließend der Aszites nach den üblichen Richtlinien entnommen. Zur laborchemischen Untersuchung wurden ein Serum- und ein EDTA-Röhrchen mit Aszitespunktat befüllt. Weiterhin wurden zur mikrobiologischen und zytologischen Untersuchung jeweils eine Probe ins Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene und eine Probe ins Institut für Pathologie versandt.

Bei Erstdiagnose einer Leberzirrhose sowie bei akutem oder stattgehabtem Blutungsereignis innerhalb des letzten halben Jahres wurden die Patienten einer Ösophago-Gastro-Duodenoskopie unterzogen. Weiterhin wurde für die Datenerhebung auch auf ÖGD-Befunde der letzten 6 Monate zurückgegriffen. Die Einteilung des Schweregrades erfolgte in drei Grade. Im Befundbericht als Grad 0-I, Grad I-II und Grad II-III beschriebene Ausprägungen wurden zur Analyse dem jeweils niedrigeren Grad zugeordnet. Die Stadieneinteilung erfolgte nach den Kriterien von Paquet [97].

Die Diagnose Hepatorenales Syndrom Typ I wurde bei einer Verdopplung der Serum-Kreatinin-Konzentration innerhalb von zwei Wochen auf Werte über 2,5 mg/dl gestellt. Ein Hepatorenales Syndrom Typ II wurde bei Serum-Kreatinin Werten zwischen 1,5 und 2,5 mg/dl bei Ausschluss möglicher anderer Ursachen für das Nierenversagen diagnostiziert. Diese Kriterien entsprechen der deutschen S3 Leitlinie von Gerbes et al. [11]

Die der Teilnahme an der Studie schloss eine Einwilligung der Patienten zu einer telefonischen Befragung nach 90 Tagen zu den Parametern neue aufgetretene Infektion (SBP, Harnwegsinfekt, Pneumonie), erstmalige oder erneute Ösophagusvarizenblutung, neu aufgetretener oder refraktärer Aszites und neu aufgetretenes Hepatorenales Syndrom sowie das Versterben innerhalb des Beobachtungszeitraumes ein.

---

## 5.5 Statistik

Die Datenerfassung erfolgte mit Hilfe von Excel®. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS® Statistics Version 20 für Windows® von IBM® durchgeführt. Die Ergebnisse sind im Folgenden tabellarisch als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung dargestellt.

Als Verfahren der mathematischen Statistik wurden zur Veranschaulichung von Zusammenhängen Mittelwertvergleiche mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben durchgeführt sowie Korrelationen nach Spearman-Rho ermittelt.

Bei Berechnungen mit mehr als drei Untergruppen und bei Varianzhomogenität wurde als Erweiterung des t-Tests für unabhängige Stichproben eine Analyse nach dem ANOVA-Modell durchgeführt.

Weiterhin wurden univariate Analysen zur Testung des prädiktiven Wertes von im Blut bestimmten Parametern und der Milzgröße für das Versterben innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes und für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen, Aszites, SBP und HRS durchgeführt.

Sensitivität und Spezifität für die Bestimmung von IPF% bei der Beurteilung des Auftretens von Komplikationen der Leberzirrhose wurden mit Hilfe von ROC-Kurven ermittelt.

Das Gesamtüberleben im dreimonatigen Nachbeobachtungszeitraum wurde mit Hilfe von Kaplan-Meier-Diagrammen dargestellt. Zur Analyse von Unterschieden unter den Gruppen diente der Log-rank Test.

Alle Analysen wurden auf dem Signifikanzniveau  $\alpha=0,05$  berechnet.

---

## 6. Ergebnisse

### 6.1 Charakteristika des Studienkollektivs

Im Zeitraum von März 2013 bis Januar 2014 wurden 88 Patienten mit Leberzirrhose, die sich in der Klinik für Innere Medizin II der Universitätsklinik des Saarlandes stationär vorstellten, prospektiv erfasst. Darunter befanden sich 30 Frauen (34,1%) und 58 Männer (65,9%). Das mittlere Alter betrug 60,5 Jahre. Zum Untersuchungszeitpunkt wurde bei 44 Patienten (50%) eine Leberzirrhose Grad A nach der Child-Pugh-Klassifikation ermittelt. 35 Patienten (39,8%) zeigten eine Leberzirrhose Grad B und 9 Patienten (10,2%) eine Leberzirrhose Grad C.

Als Ursache für die Entstehung der Leberzirrhose lag bei 49 Patienten (55,7%) ein Alkoholabusus vor, bei 20 Patienten (22,7%) eine chronische virale Infektion, davon bei 17 Patienten eine chronische Hepatitis C Virus (HCV) -Infektion (19,3%) und bei 3 Patienten eine Hepatitis B Virus (HBV) -Infektion (3,4%), bei 3 Patienten (3,4%) eine Autoimmunhepatitis, bei 2 Patienten eine Hämochromatose (2,3%) und bei jeweils einem Patienten eine NASH und eine Mukoviszidose (jeweils 1,1%). Bei den übrigen 12 Patienten (13,6%) bleibt die Ursache kryptogen.

Während des stationären Aufenthaltes konnte bei 85 Patienten (96,6 %) die Größe der Milz entweder sonographisch oder mittels CT/MRT-Abdomen bestimmt werden. Dabei fand sich im Mittel eine auf 135 mm vergrößerte Milz (SD 28,2 mm), wobei 73 Patienten (83 %) eine über 110 mm vergrößerte Milz aufwiesen.

Abbildung 3 gibt einen Überblick über die Ätiologie der Leberzirrhose der Patienten unserer Studie. In Tabelle 2 werden die Charakteristika des Studienkollektivs zusammengefasst.

### Ätiologie der Leberzirrhose

■ Nutritiv toxisch ■ Viral ■ Kryptogen ■ Andere (NASH, AIH, CF, Hämochromatose)

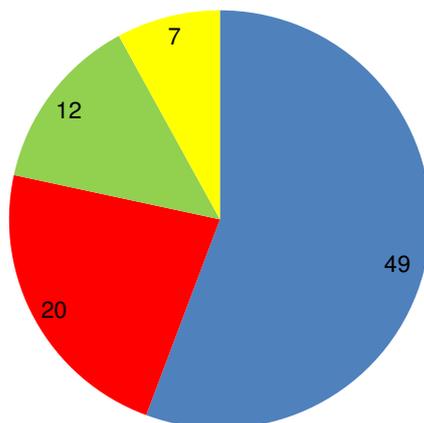


Abbildung 3: Kreisdiagramm Ätiologie der Leberzirrhose; Angabe in absoluter Patientenzahl

Parameter (Einheit)	Mittelwert (SD)	Anzahl (%)
Alter (Jahre)	61 ( $\pm$ 12)	
Geschlecht (m / w)		58 / 30 (65,9 / 34,1)
Child-Pugh (A / B / C)		44 / 35 / 9 (50 / 39,8 / 10,2)
Child-Pugh-Score	7 ( $\pm$ 2)	
MELD-Score	13 ( $\pm$ 6)	
Milzgröße (mm)	135 ( $\pm$ 28)	

Tabelle 2: Charakteristika des Studienkollektivs

## 6.2 Häufigkeit verschiedener Komplikationen der Leberzirrhose

### Aszites:

Bei 50 Patienten des Kollektivs (56,8 %) wurde sonographisch Aszites in unterschiedlicher Ausprägung ermittelt. Eingeteilt in die drei Kategorien „gering“, „mäßig“ und „massiv“ ergab sich folgende Verteilung: 20 Patienten (22,7 %) zeigten gering ausgeprägten, 3 Patienten (3,4 %) mäßig und 27 Patienten (30,7 %) massiv ausgeprägten Aszites.

### Spontane bakterielle Peritonitis:

Bei 7 Patienten (8 %) war eine spontane bakterielle Peritonitis der Grund für die stationäre Aufnahme. Weitere 12 Patienten (13,6%) gaben anamnestisch eine stattgehabte SBP an.

### Hepatorenales Syndrom:

Ein HRS war bei 9 Patienten (10,2 %) zum Zeitpunkt der Untersuchung zu ermitteln, darunter 6 Patienten (6,8 %) mit einem Typ II HRS und 3 Patienten (3,4 %) mit einem Typ I HRS. Bei 2 weiteren Patienten (2,2 %) war ein Typ I HRS in der Vorgeschichte zu eruieren und bei 3 Patienten (3,4%) ein Typ II HRS.

### Ösophagusvarizen:

Von den insgesamt 88 Patienten erhielten 69 Patienten (78,4 %) eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie. Dabei wurden Untersuchungen berücksichtigt, die während des Aufenthaltes oder maximal bis ein halbes Jahr vor Aufnahme in die Studie stattgefunden hatten. Bei den Untersuchten zeigten 48 Patienten (54,5 %) Ösophagusvarizen und 21 Patienten (23,9 %) keine Ösophagusvarizen. Unter den 48 Patienten mit Ösophagusvarizen zeigten 33 Patienten (37,5 %) Grad I, 12 Patienten (13,6 %) Grad II und 3 Patienten (3,4 %) Grad III. Bei 25 Patienten des Gesamtkollektivs (28,4 %) war eine Ösophagusvarizen-blutung zu eruieren. Dabei war das akute Blutungsereignis nur bei 2 Patienten (2,2 %) Grund für die stationäre Aufnahme, bei 14 Patienten (15,9 %) fand eine Blutung innerhalb der

letzten 15 Monate statt. Die Blutungsereignisse der übrigen Patienten liegen bis zu 10 Jahren zurück.

#### Hepatische Enzephalopathie:

Insgesamt 42 Patienten (47,7%) zeigten klinisch eine hepatische Enzephalopathie. Davon wurde bei 36 Patienten (40,9%) nach den West Haven Kriterien ein Stadium I-II und bei 6 Patienten (6,8%) ein Stadium III-IV erhoben.

#### Infektion:

Unter dem Begriff Infektion wurden zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie Harnwegsinfektionen, Pneumonien, spontane bakterielle Peritonitiden und positive Blutkulturen subsumiert. 6 Patienten (6,8%) litten an einem Harnwegsinfekt, 3 Patienten (3,4%) hatten eine Pneumonie und bei 2 Patienten (2,2%) konnten in den Blutkulturen Keime nachgewiesen werden. Dabei gab es Patienten, die mehrere infektiöse Foci (einschließlich SBP) aufwiesen, sodass in der Summe 12 Patienten (13,6%) eine oder mehrere Infektionen aufwiesen.

#### Hepatocelluläres Karzinom:

28 Patienten (31,8%) der Studie hatten bereits ein Hepatocelluläres Karzinom entwickelt.

Folgende Tabelle (Tab. 3) fasst die Komplikationen des Studienkollektivs zusammen.

<b>Komplikationen</b>	<b>Patienten (%)</b>
Aszites	50 (56,8)
- gering / mäßig / massiv	20 / 3 / 27 (22,7 / 3,4 / 30,7)
SBP (bei Aufnahme)	7 (8)
- Z.n. SBP	12 (13,6)
Hepatorenales Syndrom	9 (10,2)
- HRS Typ I / HRS Typ II	3 / 6 (3,4 / 6,8)

- Z.n. HRS Typ I / Z.n. HRS Typ II	2 / 3 (2,2 / 3,4)
Ösophagusvarizen	48 (54,5)
- Grad I / Grad II / Grad III	33 / 12 / 3 (37,5 / 13,6 / 3,4)
Ösophagusvarizenblutung	25 (28,4)
- Akute Blutung / Z.n. Blutung	2 / 23 (2,2 / 26,1)
Hepatische Enzephalopathie	42 (47,7)
- Grad I-II / Grad III-IV	36 / 6 (40,9 / 6,8)
HCC	28 (31,8)
Infektion	12 (13,6)
- Harnwegsinfekt	6 (6,8)
- Pneumonie	3 (3,4)
- Positive Blutkultur	2 (2,2)

Tabelle 3: Komplikationen des Kollektivs

### 6.3 Laborchemische Analysen

Die folgende Tabelle (Tab. 4) zeigt die in unserer Studie erhobenen laborchemischen Parameter als Mittelwert ( $\pm$  Standardabweichung). Thrombopoietin, IPF% und Thrombozyten dienen als Parameter zur Beurteilung der Thrombopoese. Leber- und Nierenfunktionsparameter wurden zur Berechnung von Child- und MELD-Score erhoben. Weiterhin wurden Infektionsparameter sowie Nt-proBNP erfasst.

Laborwert (Einheit)	Mittelwert (SD)
Thrombozyten ( $\times 10^9 / l$ )	132 ( $\pm 80$ )
IPF (%)	5,8 ( $\pm 3,6$ )
Thrombopoietin (ng / l)	67 ( $\pm 69$ )
Kreatinin (mg / dl)	1,2 ( $\pm 0,9$ )
Bilirubin (mg / dl)	3,1 ( $\pm 4,9$ )

Quick (%)	71,7 (± 21,1)
INR	1,2 (± 0,3)
Albumin (g / l)	34,2 (± 7,1)
Cystatin C (mg / l)	1,2 (± 0,8)
CRP (mg / l)	23,3 (± 34,2)
Leukozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	6,9 (± 4,2)
Procalcitonin (µg / l)	0,4 (± 0,7)
Nt-proBNP (pg / ml)	798,2 (± 1483,5)

Tabelle 4: Laborchemische Analyse des Kollektivs

#### 6.4 Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose

Der Mittelwert der Thrombozytenzahl liegt bei  $131.86 \times 10^3 / \mu\text{l}$  ( $\pm 80$ ) und damit Unterhalb des Normbereiches von  $150.000 / \mu\text{l}$  bis  $400.000 / \mu\text{l}$ . Das Minimum liegt bei  $34.000 / \mu\text{l}$ , das Maximum bei  $396.000 / \mu\text{l}$ .

Der Mittelwert der IPF% liegt bei  $5,77\%$  ( $\pm 3,6$ ), das Minimum bei  $0,9\%$  und das Maximum bei  $22,1\%$ . Nach Briggs et al. [87] liegt der Mittelwert von IPF% in unserer Studie innerhalb der Referenzwerte, nach Jung et al. [95] und Ko et al. [96] jedoch bereits oberhalb davon.

Der Mittelwert von Thrombopoietin liegt bei  $67 \text{ ng / l}$  ( $\pm 69$ ), das Minimum bei  $20 \text{ ng / l}$  und das Maximum bei  $442 \text{ ng / l}$ . Der Mittelwert von Thrombopoietin liegt unterhalb des Referenzwertes von  $70 - 100 \text{ ng / l}$ .

Nach den oben genannten Definitionen zeigten 59 Patienten (67 %) eine Thrombozytopenie und 73 Patienten (83 %) eine Splenomegalie.

Korrelation nach Spearman-Rho			
		Korrelationskoeffizient r	Signifikanz p
Thrombozyten	IPF%	-,341	<b>0,001</b>
	TPO	-,235	<b>0,035</b>
	Milzgröße	-,535	<b>0,000</b>
IPF%	TPO	0,035	0,755
	Milzgröße	0,023	0,419

**Tabelle 5: Korrelation von Thrombozytenzahl mit IPF%, TPO und Milzgröße**

Wie der obigen Tabelle (Tab. 5) zu entnehmen ist bestehen sowohl zwischen Thrombozytenzahl und IPF% signifikante inverse Korrelationen als auch zwischen Thrombozytenzahl und Thrombopoietin sowie zwischen Thrombozytenzahl und der Milzgröße. Es besteht keine Korrelation zwischen IPF% und Thrombopoietin sowie zwischen IPF% und der Milzgröße.

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Thrombozyten < 150 (x 10 <sup>9</sup> / l)	Thrombozyten ≥ 150 (x 10 <sup>9</sup> / l)	Signifikanz p
IPF%	6,4 (± 3,9)	4,3 (± 2,2)	<b>0,003</b>
TPO (ng / l)	70 (± 65)	62 (± 76)	0,638
Milzgröße (mm)	142 (± 29)	120 (± 20)	<b>0,001</b>

**Tabelle 6: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Thrombozytopenie**

Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass IPF% bei Patienten mit Thrombozytopenie im Vergleich zu Patienten ohne Thrombozytopenie signifikant erhöht ist. Auch die Milzgröße ist bei Patienten mit Thrombozytopenie signifikant erhöht. Dies ist in den Abbildung 4 und 5 graphisch dargestellt. Keine signifikanten Unterschiede zeigen die Mittelwerte von TPO im Gruppenvergleich.

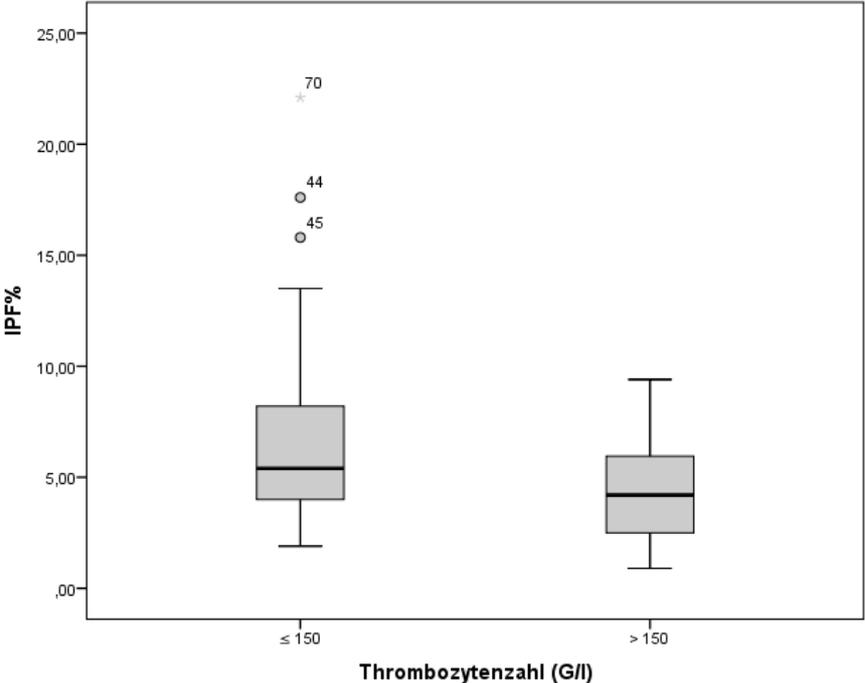


Abbildung 4: Boxplot: Thrombozytenzahl und IPF%

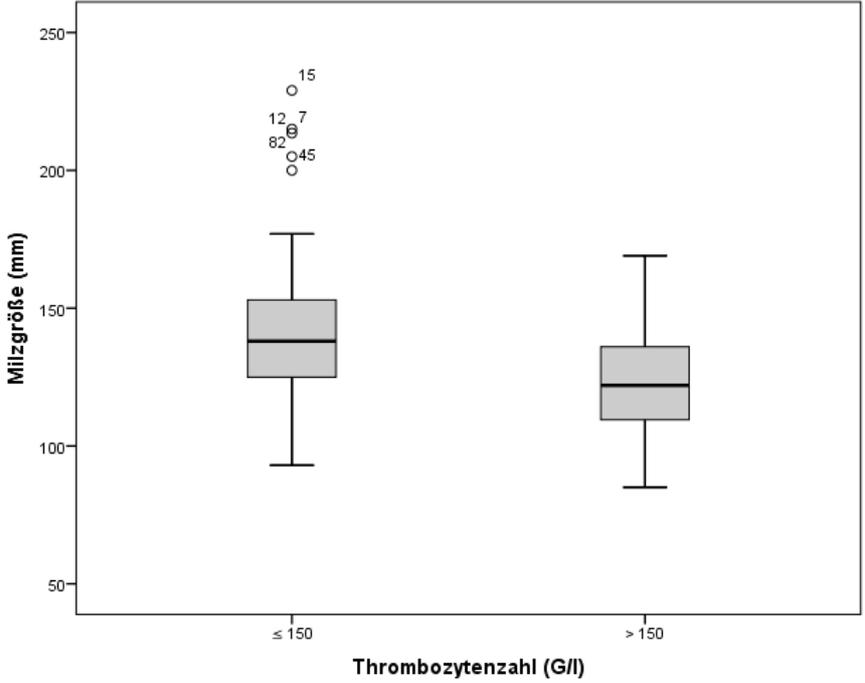


Abbildung 5: Boxplot: Thrombozytenzahl und Milzgröße

Einfaktorielle ANOVA				
Thrombozyten	< 50 (x 10 <sup>9</sup> / l)	50-100 (x 10 <sup>9</sup> / l)	101-150 (x 10 <sup>9</sup> / l)	Signifikanz p
IPF%	7,7 (± 4,2)	6,4 (± 4)	6 (± 3,9)	0,614
TPO (ng / l)	112 (± 72)	59 (± 29)	68 (± 97)	0,153
Milzgröße (mm)	186 (± 29)	141 (± 24,8)	128 (± 18)	<b>0,000</b>

Tabelle 7: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Thrombozytopenie

Tabelle 7 zeigt, dass Patienten mit schwerer Thrombozytopenie eine signifikant vergrößerte Milz aufweisen. Zusätzlich können in dieser Gruppe auch über den oberen Referenzwert von 100ng/l erhöhte Werte von Thrombopoietin sowie über den oberen Referenzwert von 6,1% erhöhte Werte von IPF% gemessen werden. Die Mittelwerte von IPF% und TPO bei schwerer, moderater und milder Thrombozytopenie unterscheiden sich im ANOVA-Modell statistisch nicht signifikant. (Abb. 6)

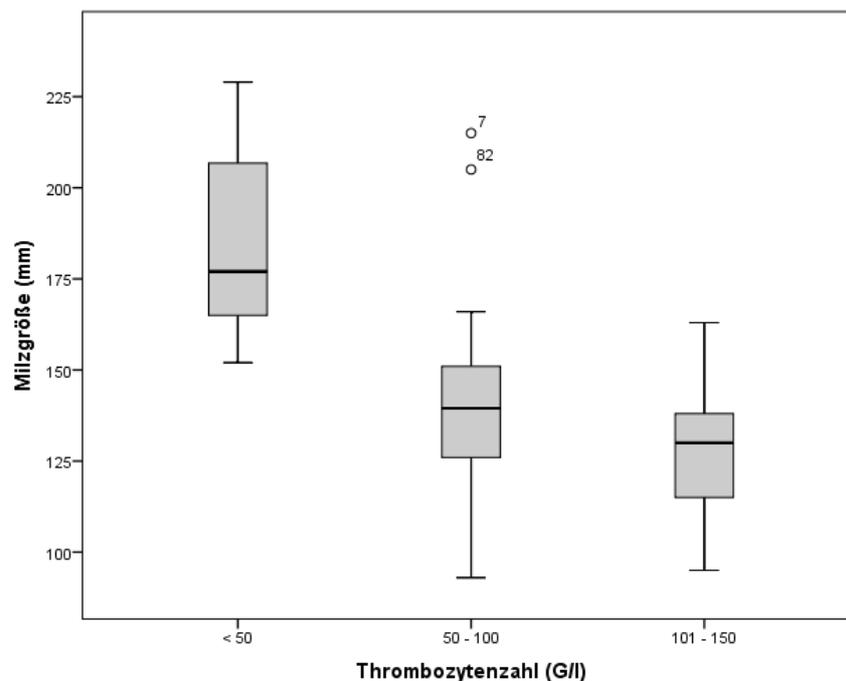


Abbildung 6: Boxplot: schwere, moderate und milde Thrombozytopenie und Milzgröße

Zur Beurteilung des Einflusses der Ätiologie der Leberzirrhose auf die Parameter IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl wurden Untergruppen bezüglich einer chronischen HCV-Infektion (Tab. 8) und einer nutritiv-toxischen Genese (Tab. 9) erstellt.

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Keine HCV-Infektion	HCV-Infektion	Signifikanz p
IPF%	5,6 (± 3,4)	6,4 (± 4,6)	0,432
TPO (ng / l)	66 (± 72)	71 (± 57)	0,796
Milzgröße (mm)	135 (± 27)	137 (± 33)	0,780
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	135 (± 84)	118 (± 63)	0,444

**Tabelle 8: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Chronische HCV-Infektion**

Der Vergleich der Mittelwerte von IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozyten bei Patienten mit bzw. ohne HCV-Infektion als Ursache der Leberzirrhose ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede.

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Kein Alkoholabusus	Alkoholabusus	Signifikanz p
IPF%	6,4 (± 3,8)	5,3 (± 3,5)	0,160
TPO (ng / l)	73 (± 76)	61 (± 63)	0,444
Milzgröße (mm)	135 (± 26)	135 (± 30)	0,974
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	118 (± 60)	143 (± 92)	0,154

**Tabelle 9: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Alkoholabusus**

Der Vergleich der Mittelwerte von IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozyten bei Patienten mit bzw. ohne Alkoholabusus als Ursache der Leberzirrhose ergab ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede.

### 6.5 IPF% und Schweregrad der Leberzirrhose

Einfaktorielle ANOVA				
	Child-Pugh A	Child-Pugh B	Child-Pugh C	Signifikanz p
IPF%	6,15 (± 4,24)	4,76 (± 2,15)	8,02 (± 4,06)	<b>0,044</b>
TPO (ng / l)	80 (± 90)	56 (± 36)	43 (± 21)	0,224
Milzgröße (mm)	137 (± 29)	131 (± 27)	142 (± 29)	0,530
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	139 (± 92,7)	133,3 (± 64,7)	91 (± 58,7)	0,260

Tabelle 10: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Leberzirrhose

Patienten mit Leberzirrhose in den verschiedenen Child-Pugh-Stadien zeigen signifikant unterschiedliche IPF%-Werte (Abb. 7). Die Mittelwerte von TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl bei Leberzirrhose in den Stadien Child-Pugh A, B und C unterscheiden sich dagegen im ANOVA-Modell statistisch nicht signifikant. (Tab. 10)

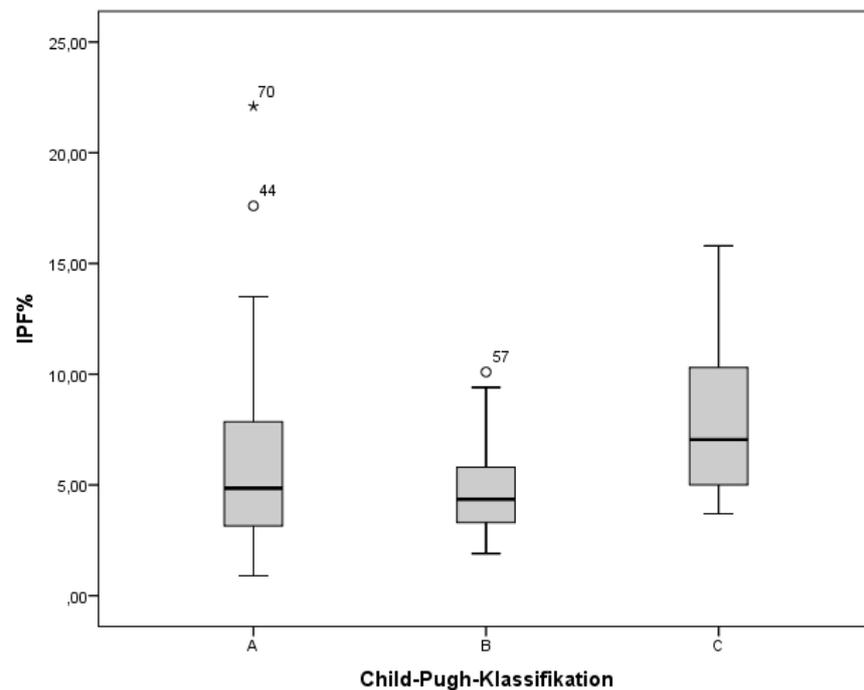


Abbildung 7: Boxplot: Child-Pugh-Klassifikation und IPF%

t-Test für unabhängige Stichproben			
	MELD ≤ 15	MELD >15	Signifikanz p
IPF%	5,9 (± 3,7)	5,4 (± 3,3)	0,559
TPO (ng / l)	72 (± 78)	51 (± 27)	0,221
Milzgröße (mm)	135 (± 27)	136 (± 31)	0,944
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	138,8 (± 86,9)	113,4 (± 55,1)	0,186

Tabelle 11: t-Test bei unabhängigen Stichproben: MELD-Score > 15

Der Gruppenvergleich im t-Test für unabhängige Stichproben ergibt für die Mittelwerte von IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl bei Patienten mit einem MELD-Score < 15 im Vergleich zu Patienten mit einem MELD-Score > 15 keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab. 11 und Abb. 8)

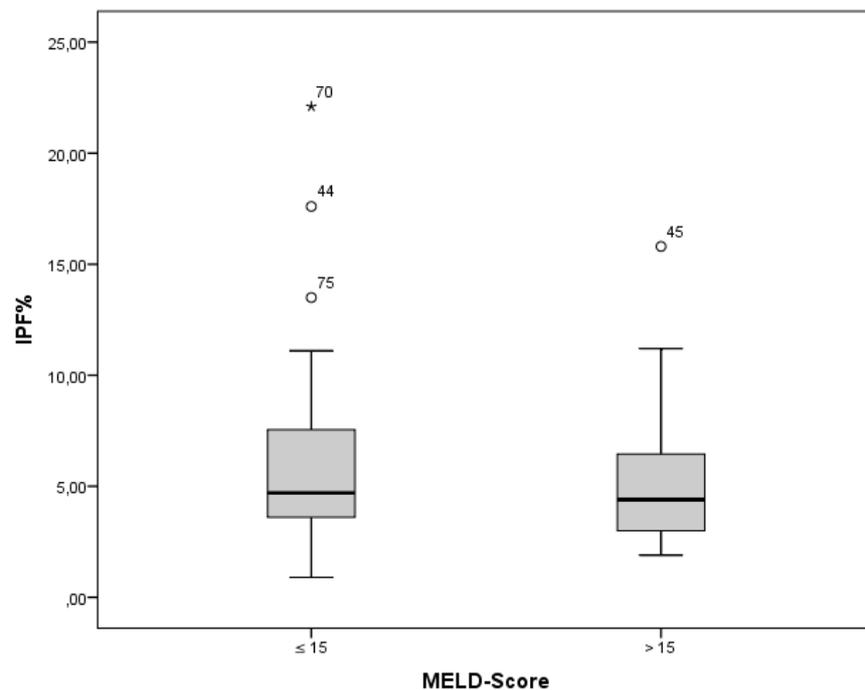


Abbildung 8: Boxplot: MELD-Score und IPF%

Einfaktorielle ANOVA				
Thrombozyten	< 50 (x 10 <sup>9</sup> / l)	50-100 (x 10 <sup>9</sup> / l)	101-150 (x 10 <sup>9</sup> / l)	Signifikanz p
Albumin (g / l)	34,9 (± 6,7)	33 (± 6,7)	35,1 (± 7,6)	0,550
Bilirubin (mg / dl)	8 (± 11,9)	2,4 (± 1,5)	3,1 (± 3,5)	<b>0,016</b>
Quick (%)	68,5 (± 27,3)	65,5 (± 18,3)	73 (± 23)	0,479
INR	1,34 (± 0,5)	1,27 (± 0,2)	1,27 (± 0,4)	0,844
Kreatinin (mg / dl)	1,7 (± 1,3)	1 (± 0,4)	1,1 (± 0,4)	<b>0,007</b>

Tabelle 12: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Thrombopenie und laborchemische Parameter, welche als Grundlage von Child-Pugh-Score und MELD-Score dienen

In der Gruppe der Patienten mit schwerer Thrombozytopenie zeigen sich signifikant erhöhte Werte von Bilirubin und Kreatinin. Die Mittelwerte von Albumin, Quick und INR bei schwerer, moderater und milder Thrombozytopenie unterscheiden sich im ANOVA-Modell statistisch nicht signifikant (Tab. 12).

### 6.6 Zusammenhang von IPF% und Thrombozytopenie mit dem Auftreten von Komplikationen

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Keine Ösophagusvarizen	Ösophagusvarizen	Signifikanz p
IPF%	4,3 ( $\pm$ 2,2)	6,6 ( $\pm$ 4,2)	<b>0,005</b>
TPO (ng / l)	86 ( $\pm$ 117)	63 ( $\pm$ 42)	0,391
Milzgröße (mm)	130 ( $\pm$ 19)	140 ( $\pm$ 33)	0,105
Thrombozyten ( $\times 10^9 / l$ )	135,1 ( $\pm$ 70,8)	122,7 ( $\pm$ 85,9)	0,564

**Tabelle 13: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Vorhandensein von Ösophagusvarizen**

Bei Patienten mit Ösophagusvarizen sind signifikant höhere Werte von IPF% im Vergleich zu Patienten ohne Ösophagusvarizen zu messen. Für TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl ergeben sich im Gruppenvergleich keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab. 13 und Abb. 9).

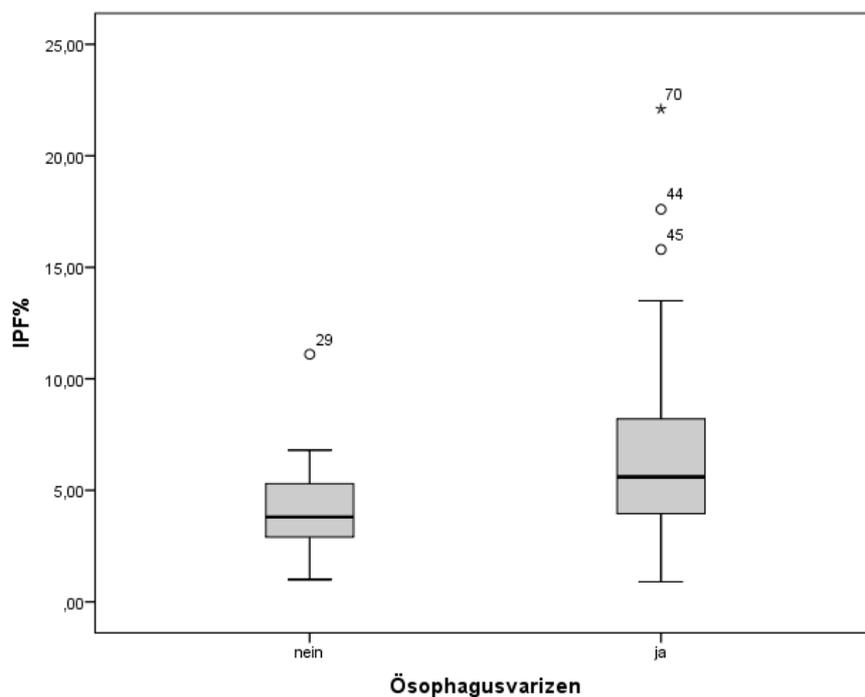


Abbildung 9: Boxplot: Ösophagusvarizen und IPF%

Einfaktorielle ANOVA					
Ösophagusvarizen	Grad 0	Grad I	Grad II	Grad III	Signifikanz p
IPF%	4,3 (± 2,2)	6 (± 3,9)	6,7 (± 3,1)	11,8 (± 88,9)	<b>0,009</b>
TPO (ng / l)	86 (± 117)	61 (± 39)	63 (± 51)	80 (± 40)	0,679
Milzgröße (mm)	130 (± 19)	145 (± 36)	130 (± 21)	139 (± 28)	0,252
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	135 (± 70)	123 (± 94)	132 (± 66)	72 (± 31)	0,653

Tabelle 14: Einfaktorielle ANOVA: Grad der Ösophagusvarizen

Bei Patienten mit Ösophagusvarizen unterscheiden sich die Mittelwerte von IPF% zwischen den verschiedenen Graden signifikant. Patienten mit Grad III zeigen die höchsten IPF%-Werte. Entsprechend den obigen Ergebnissen zeigen

sich für TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab. 14).

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Keine Ösophagusvarizen- blutung	Ösophagusvarizen- blutung	Signifikanz p
IPF%	5,5 (± 3,9)	6,4 (± 2,9)	0,326
TPO (ng / l)	65 (± 76)	70 (± 45)	0,764
Milzgröße (mm)	132 (± 24)	143 (± 36)	0,194
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	140 (± 77)	110 (± 84)	0,118

**Tabelle 15: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Ösophagusvarizenblutung**

Für das Ereignis der Ösophagusvarizenblutung ergeben sich für IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl keine statistisch signifikanten Unterschiede im Mittelwertvergleich (Tab. 15).

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Kein Aszites	Aszites	Signifikanz p
IPF%	5,4 (± 3,3)	6 (± 3,9)	0,467
TPO (ng / l)	79 (± 96)	57 (± 36)	0,205
Milzgröße (mm)	138 (± 31)	133 (± 25)	0,407
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	127 (± 76)	136 (± 84)	0,605

**Tabelle 16: t-Test bei unabhängigen Stichproben: Aszites**

Für das Auftreten von Aszites als Komplikation der Leberzirrhose ergeben sich für IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl keine statistisch signifikanten Unterschiede im Mittelwertvergleich (Tab. 16).

Einfaktorielle ANOVA					
Aszites	Grad 0	Grad I	Grad II	Grad III	Signifikanz p
IPF%	5,4 (± 3,3)	7,1 (± 4,8)	3,6 (± 2,3)	5,5 (± 3,1)	0,241
TPO (ng / l)	79 (± 96)	58 (± 35)	36 (± 12)	59 (± 38)	0,517
Milzgröße (mm)	138 (± 31)	128 (± 22)	126 (± 35)	138 (± 27)	0,540
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	127 (± 76)	124 (± 81)	203 (± 169)	137 (± 74)	0,426

**Tabelle 17: Einfaktorielle ANOVA: Aszites-Grad**

Auch für die Aszites-Ausprägungsgrade gering, mäßig und massiv ergeben sich im ANOVA-Modell keine statistisch signifikanten Unterschiede der Mittelwerte (Tab. 17).

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Kein HRS	HRS	Signifikanz p
IPF%	5,7 (± 3,6)	6,6 (± 4,3)	0,460
TPO (ng / l)	67 (± 72)	65 (± 21)	0,922
Milzgröße (mm)	134 (± 28)	145 (± 29)	0,277
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	133 (± 79)	199 (± 97)	0,614

**Tabelle 18: t-Test bei unabhängigen Stichproben: HRS**

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Keine SBP	SBP	Signifikanz p
IPF%	5,7 ( $\pm$ 3,6)	7 ( $\pm$ 4,5)	0,358
TPO (ng / l)	66 ( $\pm$ 71)	71 ( $\pm$ 52)	0,872
Milzgröße (mm)	135 ( $\pm$ 28)	142 ( $\pm$ 36)	0,538
Thrombozyten ( $\times 10^9 / l$ )	128 ( $\pm$ 76)	181 ( $\pm$ 111)	0,093

**Tabelle 19: T-Test bei unabhängigen Stichproben: SBP**

t-Test für unabhängige Stichproben			
	Keine Infektion	Infektion	Signifikanz p
IPF%	5,7 ( $\pm$ 3,6)	6 ( $\pm$ 3,6)	0,794
TPO (ng / l)	63 ( $\pm$ 59)	90 ( $\pm$ 113)	0,435
Milzgröße (mm)	135 ( $\pm$ 28)	136 ( $\pm$ 32)	0,941
Thrombozyten ( $\times 10^9 / l$ )	127 ( $\pm$ 79)	164 ( $\pm$ 86)	0,142

**Tabelle 20: T-Test bei unabhängigen Stichproben: Infektion (SBP, HWI, Pneumonie)**

Und auch hinsichtlich der Komplikationen HRS (Tab. 18), SBP (Tab. 19) und Infektionen (Harnwegsinfekt, Pneumonie, positive Blutkultur) (Tab. 20) zeigen die t-Tests für IPF%, TPO, Milzgröße und Thrombozytenzahl keine signifikanten Unterschiede.

## 6.7 Prädiktive Parameter für das Auftreten von Komplikationen bei Patienten mit Leberzirrhose

### Komplikation Aszites:

Allgemeines lineares Modell univariat			
	Kein Aszites	Aszites	Signifikanz p
IPF%	5,4 (± 3,3)	6 (± 3,9)	0,467
TPO (ng / l)	79 (± 96)	57 (± 37)	0,156
Milzgröße (mm)	138 (± 31)	133 (± 26)	0,407
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	127 (± 76)	136 (± 84)	0,605
Kreatinin (mg / dl)	1,1 (± 1,1)	1,3 (± 0,8)	0,237
Bilirubin (mg / dl)	1,7 (± 1,3)	4,2 (± 6,2)	<b>0,021</b>
INR	1,1 (± 0,1)	1,3 (± 0,4)	<b>0,001</b>
Quick (%)	80 (± 17)	65 (± 22)	<b>0,000</b>
Albumin (g / l)	37 (± 5,5)	32 (± 7,4)	<b>0,000</b>
CystatinC (mg / l)	1,4 (± 0,5)	2 (± 0,8)	<b>0,001</b>
Nt-proBNP (pg / ml)	343 (± 650)	1111 (± 1792)	<b>0,021</b>
Leukozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	6 (± 3)	7,7 (± 4,8)	<b>0,047</b>

Tabelle 21: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten von Aszites

In der univariaten Analyse erweisen sich erhöhtes Bilirubin, erhöhter INR, erniedrigter Quick-Wert, erniedrigtes Albumin, erhöhtes CystatinC, erhöhtes NT-proBNP und erhöhte Leukozyten als prädiktive Faktoren für das Vorliegen von Aszites. Kreatinin, IPF%, TPO, der Längsdurchmesser der Milz und die

Thrombozytenzahl erweisen sich in diesem Zusammenhang in unserer Studie nicht als prädiktiv aussagekräftige Marker (Tab. 21).

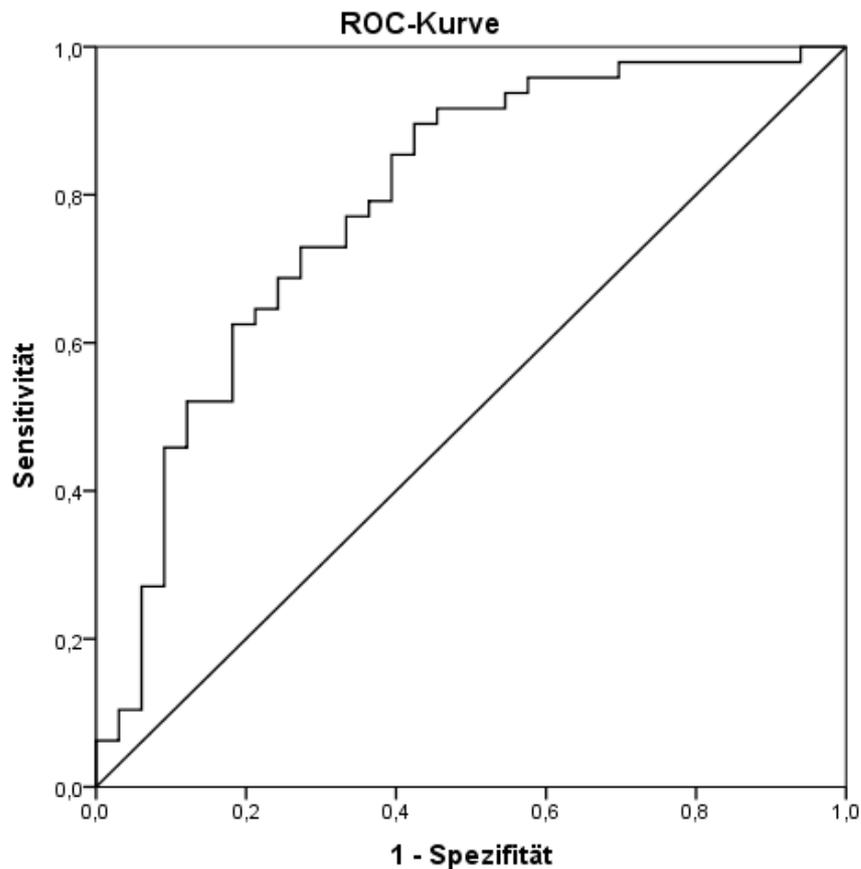


Abbildung 10: ROC-Kurve NT-proBNP und Aszites

Die ermittelte ROC-Kurve (Abb. 10) weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,789 auf eine gute prädiktive Wertigkeit der NT-proBNP-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens von Aszites hin (95%-CI: 0,684 – 0,893;  $p < 0,001$ ). Bei einem Cut-off-Wert von NT-proBNP von 243,4 pg/ml liegt die Sensitivität bei 77,1% bei einer Spezifität von 66,7%.

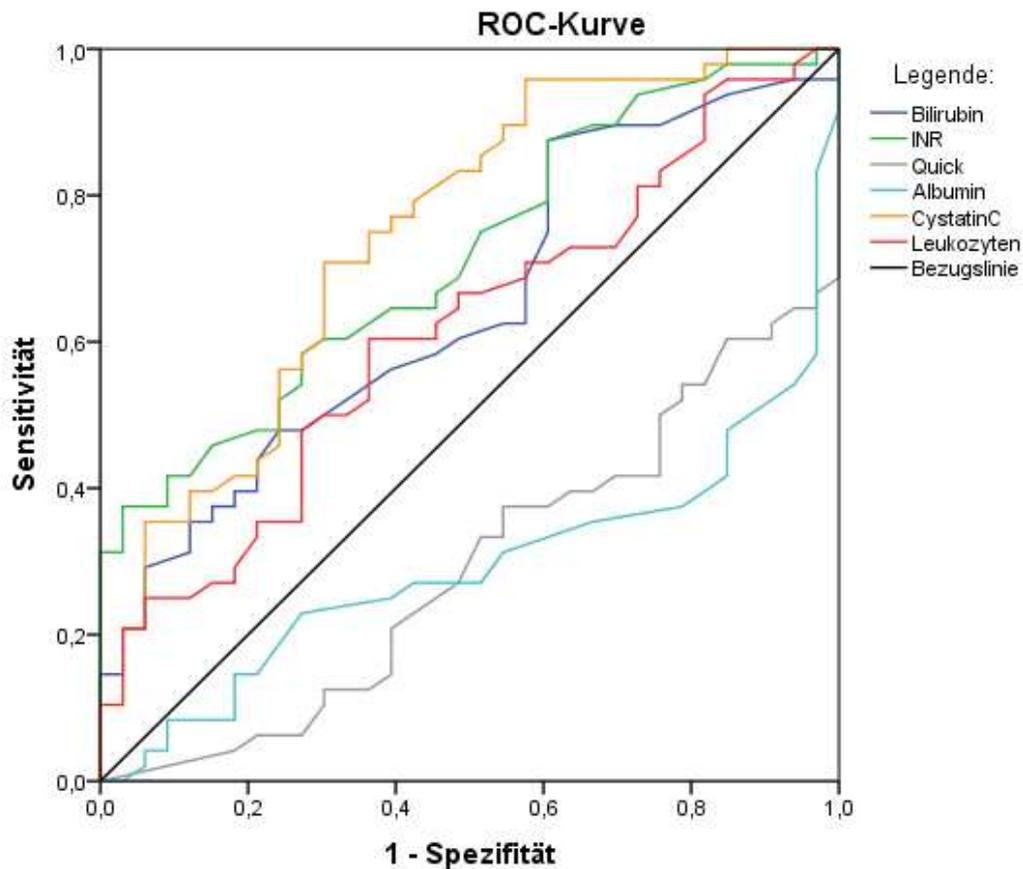


Abbildung 11: ROC-Kurven Bilirubin, INR, Quick, Albumin, CystatinC, Leukozyten und Aszites

Die ermittelten ROC-Kurven für Bilirubin (AUROC: 0,648), INR (AUROC: 0,716), Quick (AUROC: 0,294), Albumin (AUROC: 0,294), CystatinC (AUROC: 0,747; 95%-CI: 0,637 – 0,857;  $p < 0,001$ ) und die Leukozytenzahl (AUROC: 0,615) zeigen, dass auch CystatinC eine gute prädiktive Wertigkeit zur Beurteilung des Vorliegens von Aszites aufweist (Abb. 11). Bei einem Cut-off-Wert von 1,37mg/l liegt die Sensitivität bei 77,1% bei einer Spezifität von 60,6%. Für die INR-Bestimmung liegt bei einem Cut-off-Wert von 1,1 eine Sensitivität von 68,8% und Spezifität von 51,5% zur Beurteilung des Vorliegens von Aszites vor. Für Bilirubin liegt bei einem Cut-off-Wert von 1,6mg/dl eine Sensitivität von 60,4% und Spezifität von 51,5% vor. Quick, Albumin und die Leukozytenzahl sind nicht als prädiktive Parameter zur Beurteilung des Vorliegens von Aszites geeignet.

Komplikation Spontane bakterielle Peritonitis:

Allgemeines lineares Modell univariat			
	Keine SBP	SBP	Signifikanz p
IPF%	5,7 (± 3,6)	7 (± 4,5)	0,358
TPO (ng / l)	66 (± 70)	71 (± 52)	0,872
Milzgröße (mm)	135 (± 28)	142 (± 36)	0,538
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	128 (± 76)	181 (± 111)	0,093
Kreatinin (mg / dl)	1,2 (± 0,9)	2 (± 1,5)	<b>0,037</b>
CystatinC (mg / l)	1,7 (± 0,6)	2,7 (± 1,3)	<b>0,001</b>
Nt-proBNP (pg / ml)	683 (± 1341)	2019 (± 2358)	<b>0,022</b>

Tabelle 22: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten einer SBP

Für das Auftreten einer spontanen bakteriellen Peritonitis erweisen sich in der univariaten Analyse erhöhtes Kreatinin, erhöhtes CystatinC und erhöhtes NT-proBNP als prädiktiv aussagekräftige Parameter. IPF%, TPO, der Längsdurchmesser der Milz und die Thrombozytenzahl erweisen sich in unserer Studie nicht als prädiktiv aussagekräftige Marker für das Auftreten einer SBP (Tab. 22).

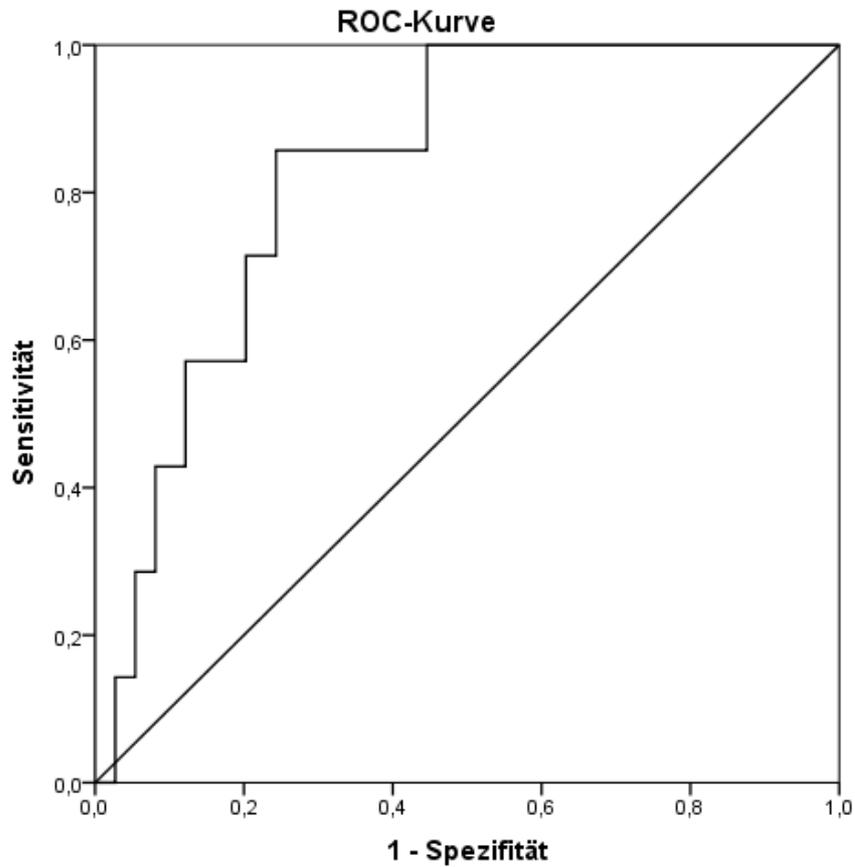


Abbildung 12: ROC-Kurve NT-proBNP und SBP

Die ermittelte ROC-Kurve weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,832 auf eine sehr gute prädiktive Wertigkeit der NT-proBNP-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens einer SBP hin (95%-CI: 0,714 – 0,950;  $p = 0,004$ ). Bei einem Cut-off Wert von NT-proBNP von 677,3 pg/ml liegt die Sensitivität bei 85,7% bei einer Spezifität von 75,7% (Abb. 12).

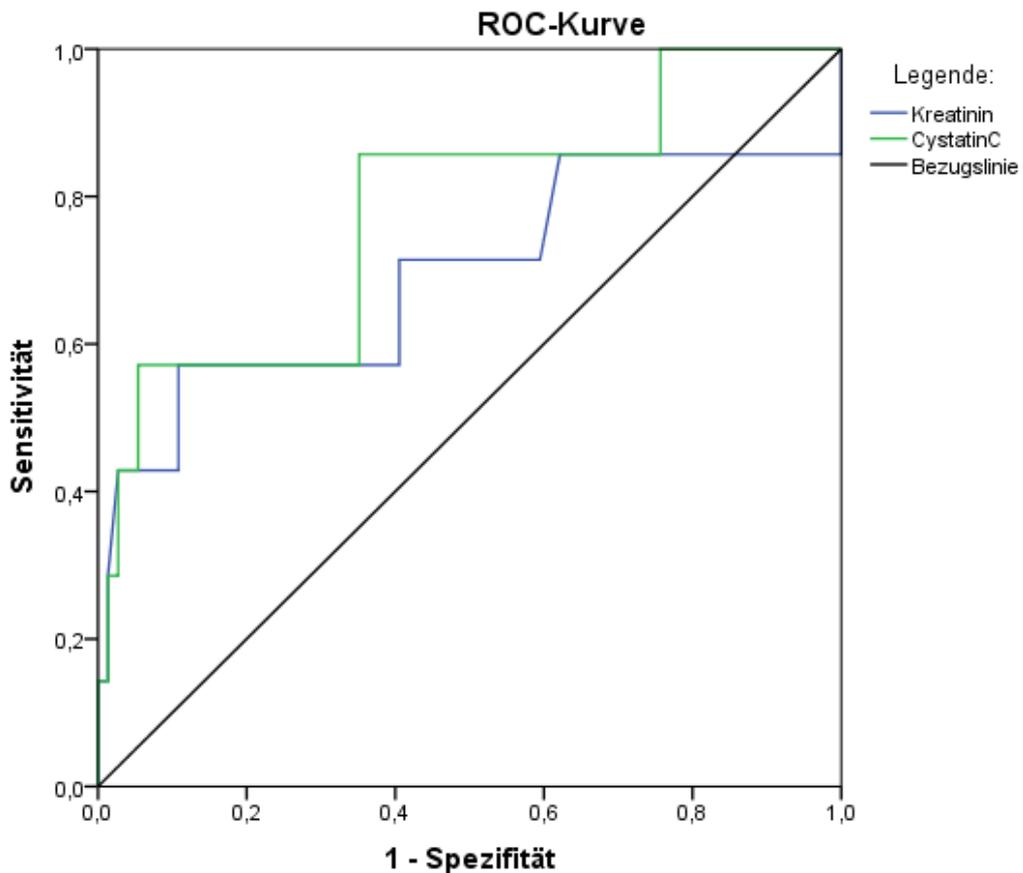


Abbildung 13: ROC-Kurven Kreatinin und SBP, CystatinC und SBP

Die ermittelte ROC-Kurve für Kreatinin zeigt bei einer Fläche unter der Kurve von 0,692 keine Signifikanz (95%-CI: 0,426 – 0,959;  $p = 0,094$ ). Die ermittelte ROC-Kurve für CystatinC (Abb. 13) weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,778 auf eine gute prädiktive Wertigkeit der CystatinC-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens einer SBP hin (95%-CI: 0,578 – 0,978;  $p = 0,016$ ). Bei einem Cut-off Wert von 1,74mg/l liegt die Sensitivität bei 85,7% bei einer Spezifität von 74,9%.

Komplikation Ösophagusvarizen:

Allgemeines lineares Modell univariat			
	Keine Ösophagusvarizen	Ösophagusvarizen	Signifikanz p
IPF%	4,3 (± 2,1)	6,5 (± 4,2)	<b>0,026</b>
TPO (ng / l)	86 (± 117)	63 (± 42)	0,245
Milzgröße (mm)	130 (± 19)	140 (± 32)	0,181
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	135 (± 70)	122 (± 85)	0,564
Kreatinin (mg / dl)	1,3 (± 1,4)	1,1 (± 0,7)	0,559
Bilirubin (mg / dl)	5 (± 7,1)	2 (± 1,4)	0,005
INR	1,4 (± 0,5)	1,2 (± 0,1)	0,030
Quick (%)	69 (± 26)	72 (± 17)	0,579
Albumin (g / l)	31 (± 7)	34 (± 6)	0,142
CystatinC (mg / l)	1,5 (± 0,5)	1,9 (± 0,8)	0,117
Nt-proBNP (pg / ml)	597 (± 800)	708 (± 1194)	0,708

Tabelle 23: Allgemeines lineares Modell univariat: Vorhandensein von Ösophagusvarizen

Für das Vorliegen von Ösophagusvarizen erweist sich in der univariaten Analyse nur ein erhöhtes IPF% als prädiktiv aussagekräftiger Parameter. Die Ergebnisse für Bilirubin und INR sind durch Ausreißer verzerrt und damit nicht sicher verwertbar. TPO, der Längsdurchmesser der Milz und die Thrombozytenzahl, sowie Kreatinin, Quick, Albumin, CystatinC und NT-proBNP erweisen sich in unserer Studie nicht als prädiktiv aussagekräftige Marker für das Auftreten von Ösophagusvarizen (Tab. 23).

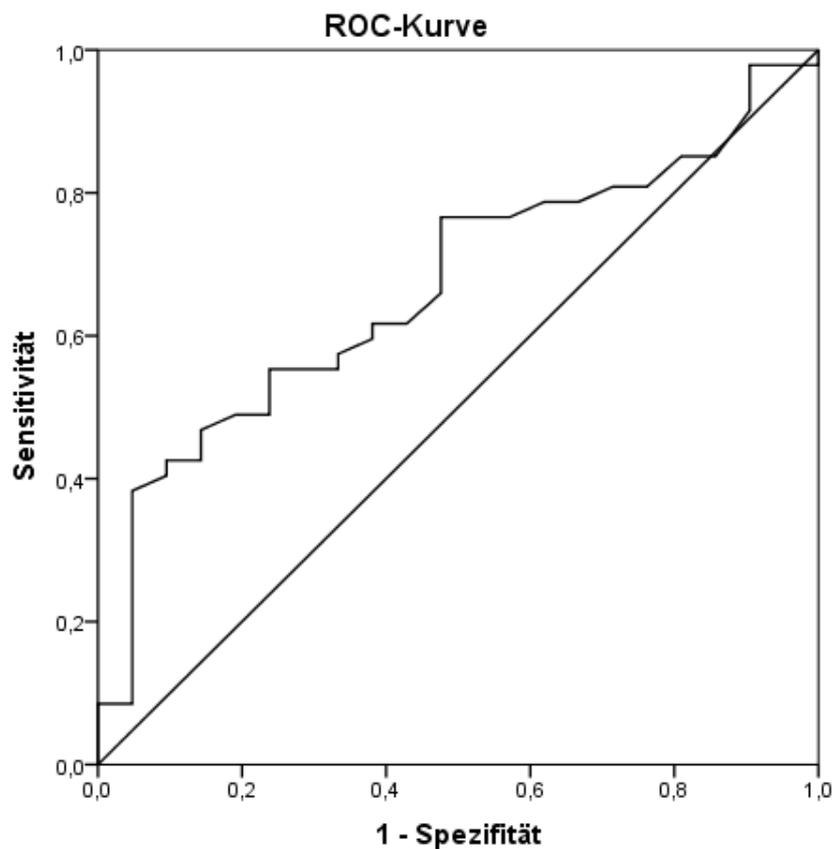


Abbildung 14: ROC-Kurve IPF% und Ösophagusvarizen

Die ermittelte ROC-Kurve (Abb. 14) weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,669 auf eine geringe prädiktive Wertigkeit der IPF%-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens von Ösophagusvarizen hin (95%-CI: 0,538 – 0,800;  $p = 0,027$ ). Bei einem Cut-off Wert von IPF% von 3,85% liegt die Sensitivität bei 76,6% bei einer Spezifität von 52,4%.

Komplikation Hepatorenales Syndrom:

Allgemeines lineares Modell univariat			
	Kein HRS	HRS	Signifikanz p
IPF%	5,7 (± 3,6)	6,6 (± 4,3)	0,460
TPO (ng / l)	67 (± 72)	64 (± 20)	0,922
Milzgröße (mm)	134 (± 28)	145 (± 29)	0,277
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	133 (± 79)	119 (± 97)	0,614
Kreatinin (mg / dl)	1,1 (± 0,8)	2,4 (± 1,3)	<b>&lt; 0,001</b>
Bilirubin (mg / dl)	2,9 (± 4,1)	5 (± 9,6)	0,221
INR	1,3 (± 0,3)	1,2 (± 0,2)	0,526
Quick (%)	71 (± 21)	75 (± 19)	0,622
Albumin (g / l)	35 (± 7)	31 (± 6)	0,144
Cystatin C (mg / l)	1,6 (± 0,6)	3 (± 0,9)	<b>&lt; 0,001</b>
Nt-proBNP (pg / ml)	710 (± 1359)	1501 (± 2235)	0,132

Tabelle 24: Allgemeines lineares Modell univariat: Auftreten eines HRS

Erhöhte Werte von Kreatinin und CystatinC erweisen sich in der univariaten Analyse als prädiktiv aussagekräftige Parameter für das Auftreten eines Hepatorenalen Syndroms (Tab. 24).

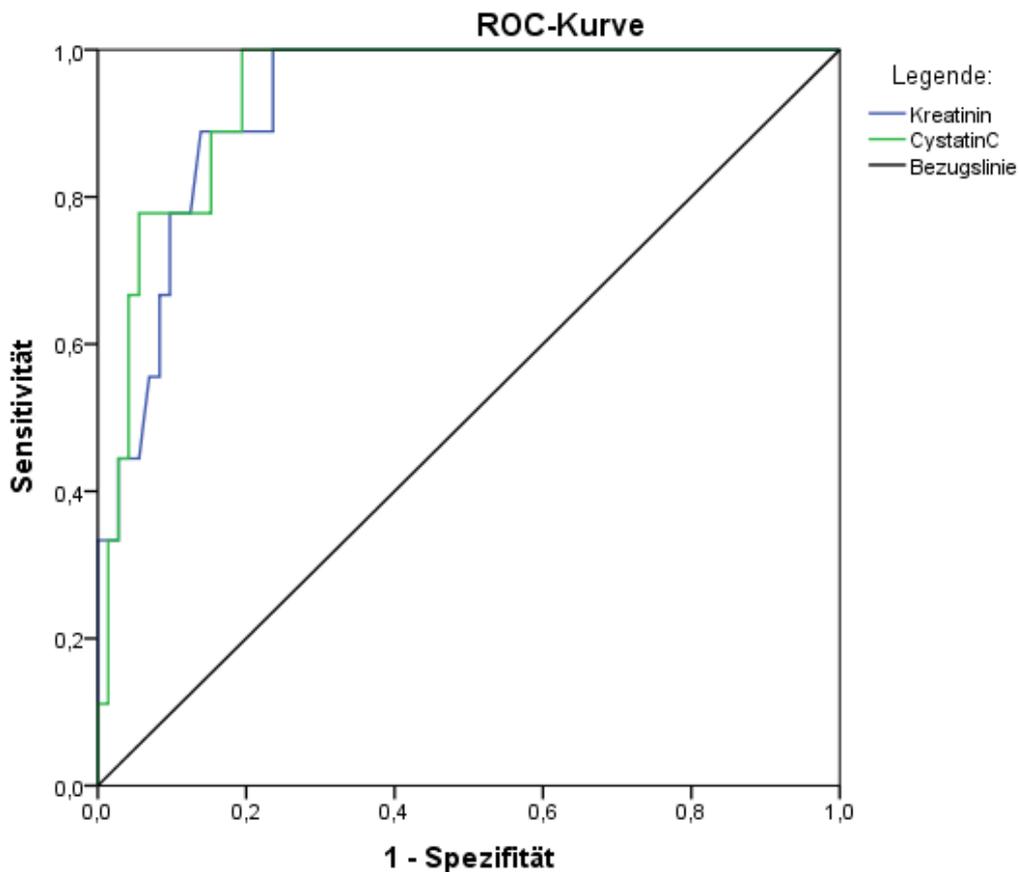


Abbildung 15: ROC-Kurven Kreatinin und HRS, CystatinC und HRS

Die ermittelte ROC-Kurve für Kreatinin (Abb. 15) weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,929 auf eine sehr gute prädiktive Wertigkeit der Kreatinin-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens eines HRS hin (95%-CI: 0,866 – 0,992;  $p < 0,001$ ). Bei einem Cut-off Wert von 1,3mg/dl liegt die Sensitivität bei 100% bei einer Spezifität von 76,4%. Die ermittelte ROC-Kurve für CystatinC (Abb. 15) weist mit einer Fläche unter der Kurve von 0,940 ebenfalls auf eine sehr gute prädiktive Wertigkeit der CystatinC-Bestimmung zur Beurteilung des Vorliegens eines HRS hin (95%-CI: 0,883 – 0,996;  $p < 0,001$ ). Bei einem Cut-off Wert von 2,05mg/l liegt die Sensitivität bei 100% bei einer Spezifität von 80,6%.

## 6.8 Mortalität bei Patienten mit Leberzirrhose

Die Datenerfassung im dreimonatigen Nachbeobachtungszeitraum konnte bei 8 Patienten nicht durchgeführt werden, wodurch sich das Kollektiv auf 80 Patienten verringerte. 7 Patienten davon (9%) verstarben innerhalb des 90-tägigen Nachbeobachtungszeitraumes (Abb. 16).

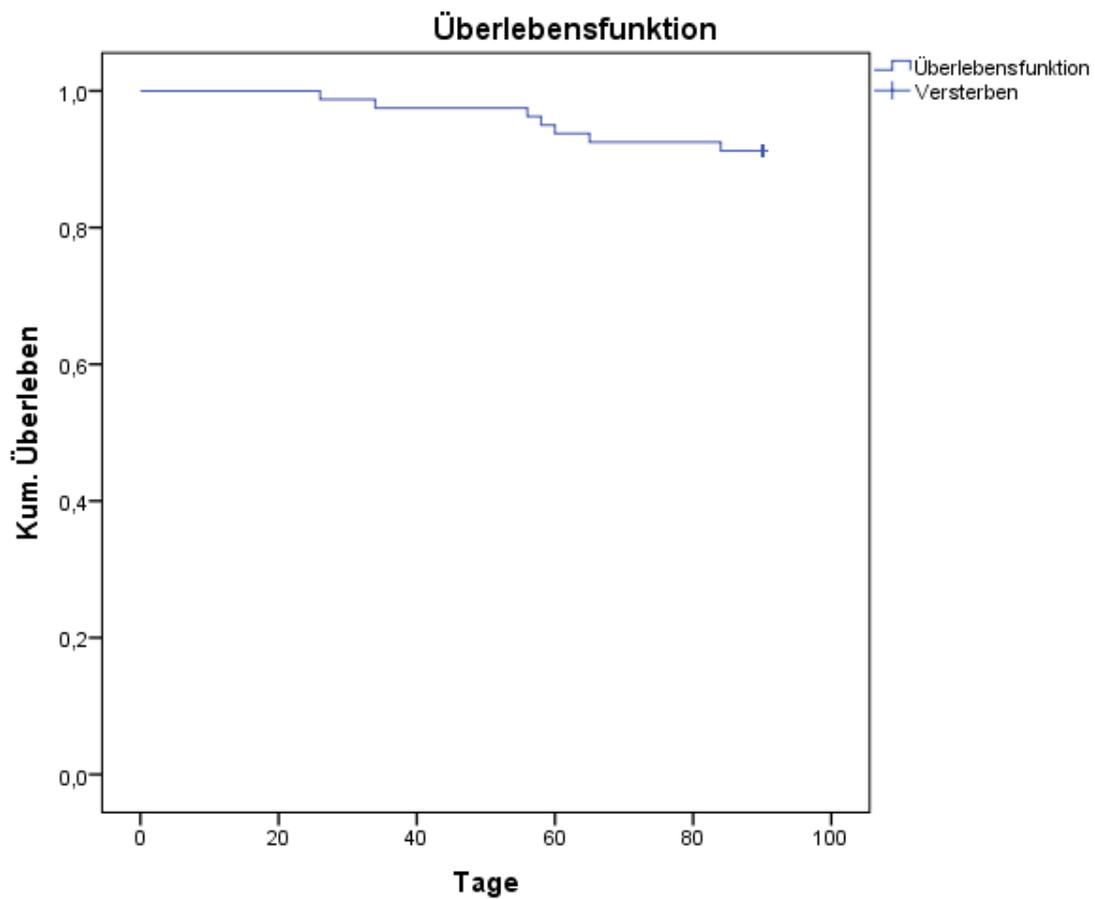


Abbildung 16: Kaplan-Meier Diagramm: Gesamtüberleben im 90 Tage Nachbeobachtungszeitraum

Allgemeines lineares Modell univariat			
	Versterben innerhalb von drei Monaten	Überleben	Signifikanz p
IPF%	5,4 (± 2,2)	5,9 (± 3,9)	0,721
TPO (ng / l)	56 (± 37)	71 (± 74)	0,596
Milzgröße (mm)	125 (± 27)	137 (± 29)	0,331
Thrombozyten (x 10 <sup>9</sup> / l)	128 (± 59)	128 (± 84)	0,988
Kreatinin (mg / dl)	1,3 (± 0,4)	1,2 (± 0,9)	0,880
Bilirubin (mg / dl)	7,4 (± 8,2)	2,5 (± 3,8)	<b>0,005</b>
INR	1,6 (± 0,7)	1,2 (± 0,2)	<b>0,000</b>
Quick (%)	57 (± 30)	73 (± 20)	<b>0,045</b>
Albumin (g / l)	32 (± 8)	35 (± 7)	0,316
CystatinC (mg / l)	1,8 (± 0,4)	1,7 (± 0,7)	0,896
Nt-proBNP (pg / ml)	592 (± 815)	814 (± 1604)	0,720

**Tabelle 25: Allgemeines lineares Modell univariat: Überleben 90-Tage**

In der univariaten Analyse erweisen sich ein erhöhtes Bilirubin, ein erhöhter INR und ein erniedrigter Quick als prädiktive Faktoren für das Versterben innerhalb von 90 Tagen. IPF%, TPO und die Thrombozytenzahl erweisen sich in unserer Studie nicht als prädiktiv aussagekräftige Parameter hierfür. Dies gilt ebenso so für die Milzgröße, Kreatinin, Albumin, Cystatin C und Nt-proBNP (Tab. 25).

Aus den Überlebenskurven lassen sich keine signifikanten Unterschiede für das Ereignis des Versterbens innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes bei schwerer, moderater und milder Thrombozytopenie ableiten (Abb. 17). Der p-Wert im Log-rank-Test liegt bei 0,412. Dies gilt auch für den Vergleich von Patienten mit bzw. ohne Thrombozytopenie im Allgemeinen. Hier liegt der p-Wert im Log-rank-Test bei 0,459.

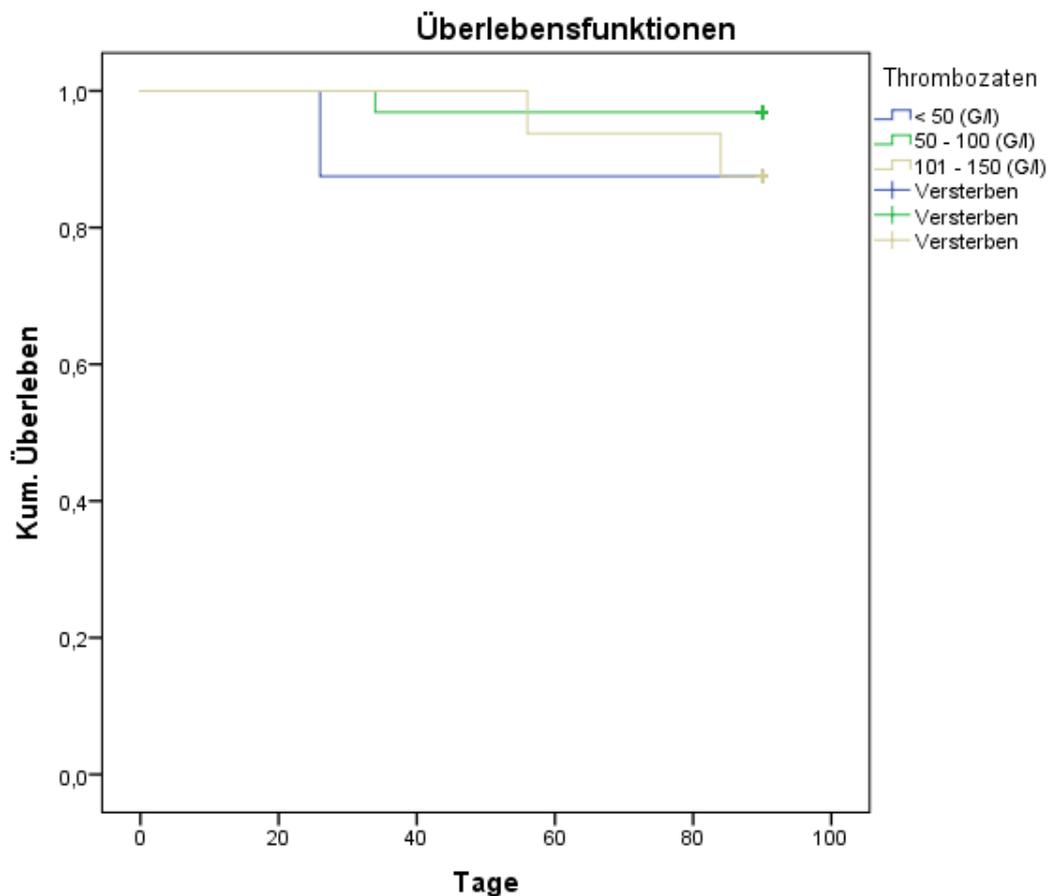


Abbildung 17: Kaplan-Meier Diagramm: milde, moderate und schwere Thrombozytopenie

Dies gilt auch für die Analyse bei Splenomegalie (Abb. 18). Es gibt keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Ereignisses des Versterbens zwischen Patienten mit bzw. ohne vergrößerte Milz. Der p-Wert beträgt im Log-rank-Test 0,759.

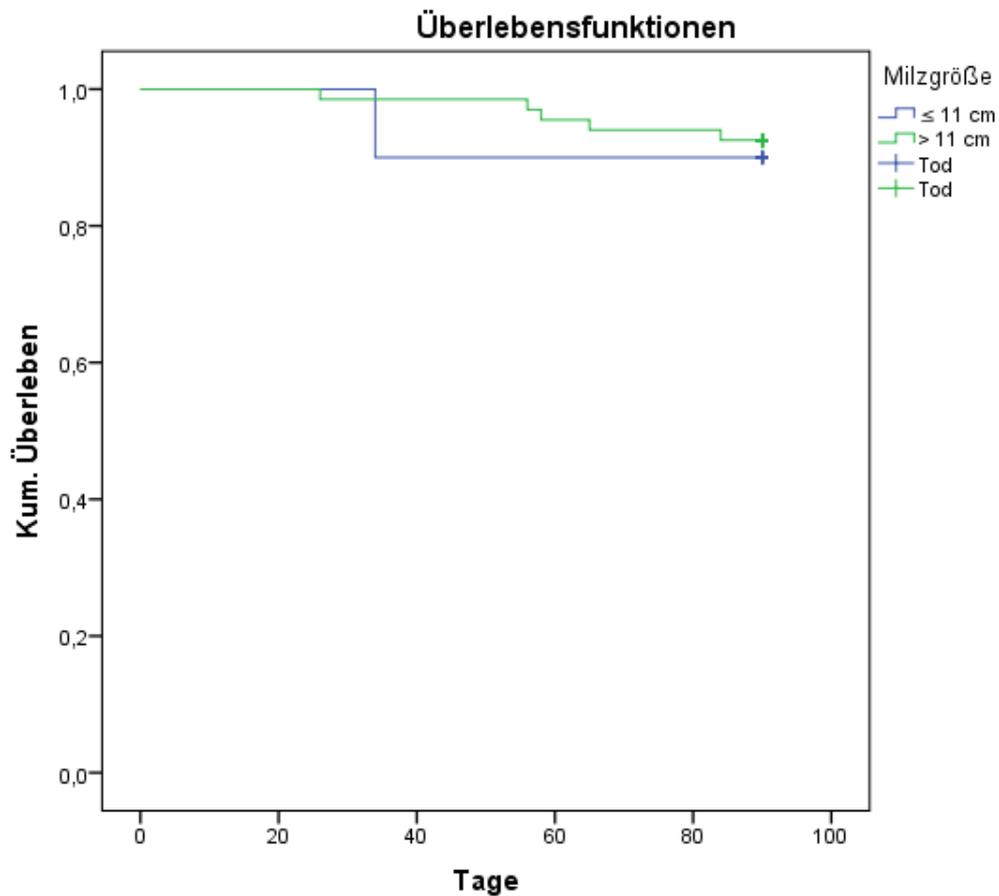


Abbildung 18: Kaplan-Meier Diagramm: Splenomegalie

Ebenso zeigen sich beim Vergleich von Patienten mit IPF%-Werten  $> 6,1\%$  und Patienten mit IPF%-Werten  $\leq 6,1\%$  für das Versterben innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes keine signifikanten Unterschiede (Abb. 19). Der p-Wert im Log-rank-Test beträgt 0,563.

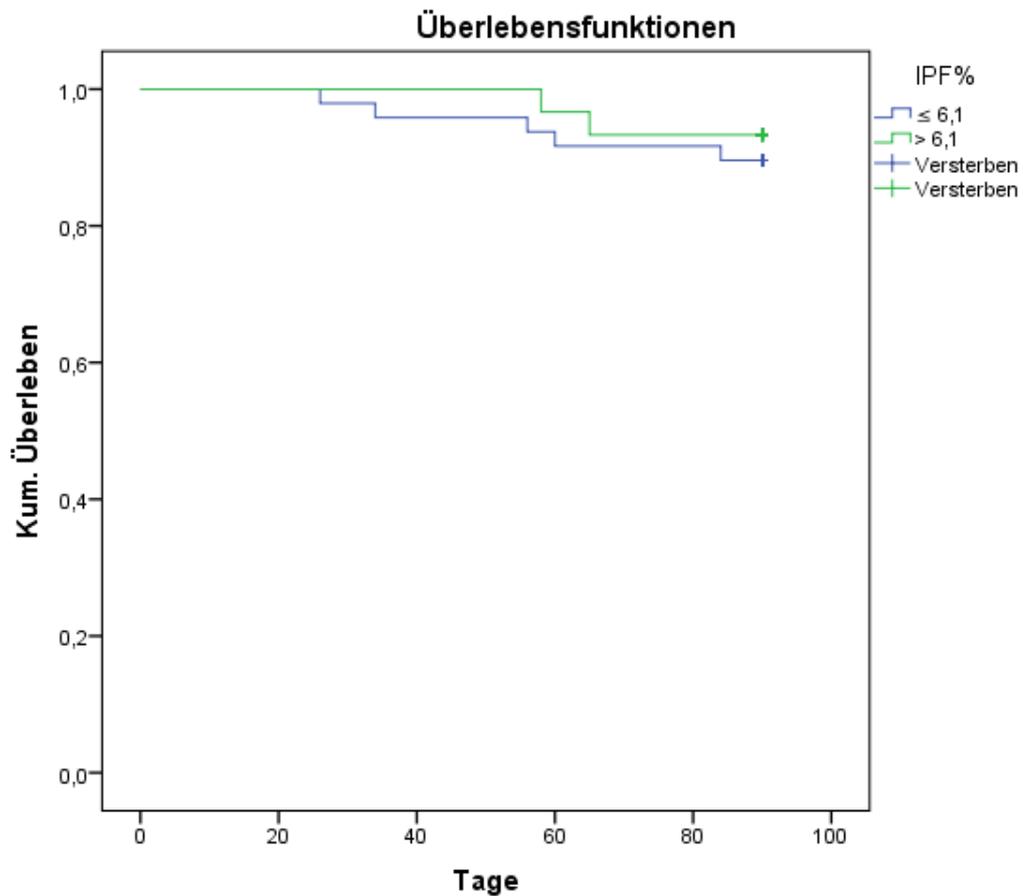


Abbildung 19: Kaplan-Meier Diagramm: IPF% ober- und unterhalb des Referenzwertes von 6,1%

Dies gilt auch wenn die Obergrenze des Referenzbereiches nach Jung et al. [95] bei 3,2% angesetzt wird. Der p-Wert im Log-rank-Test liegt bei 0,137.

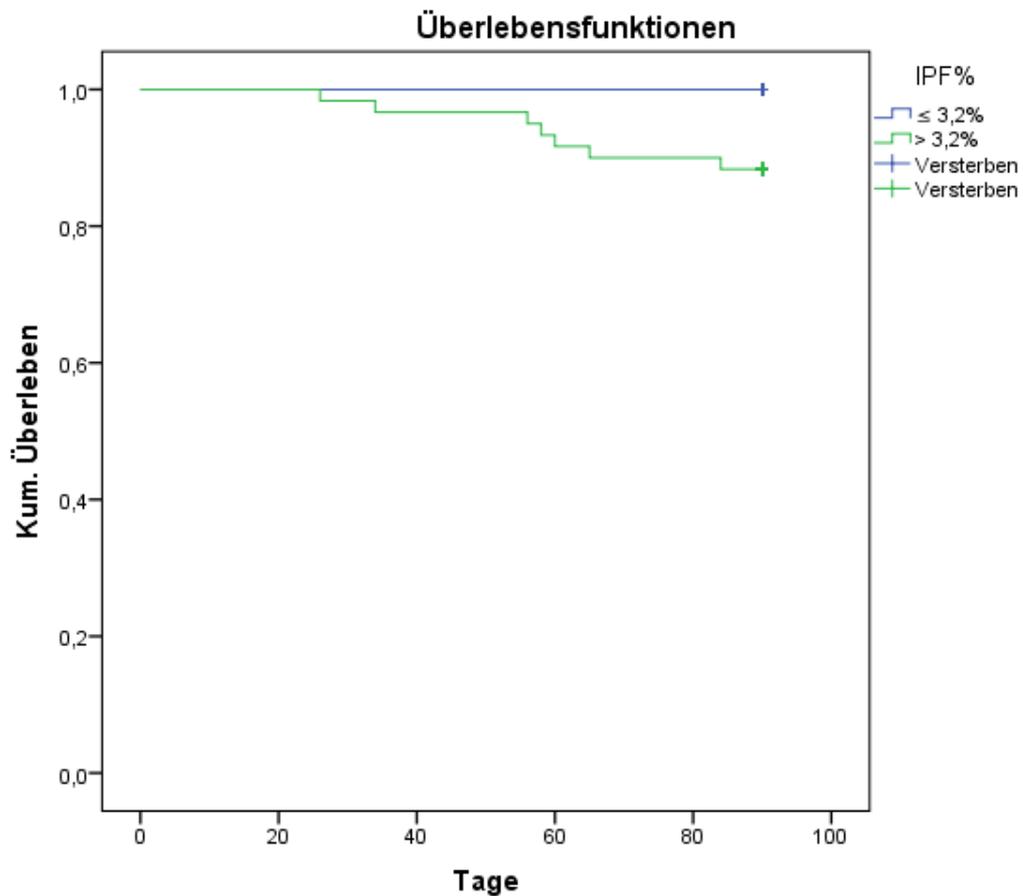


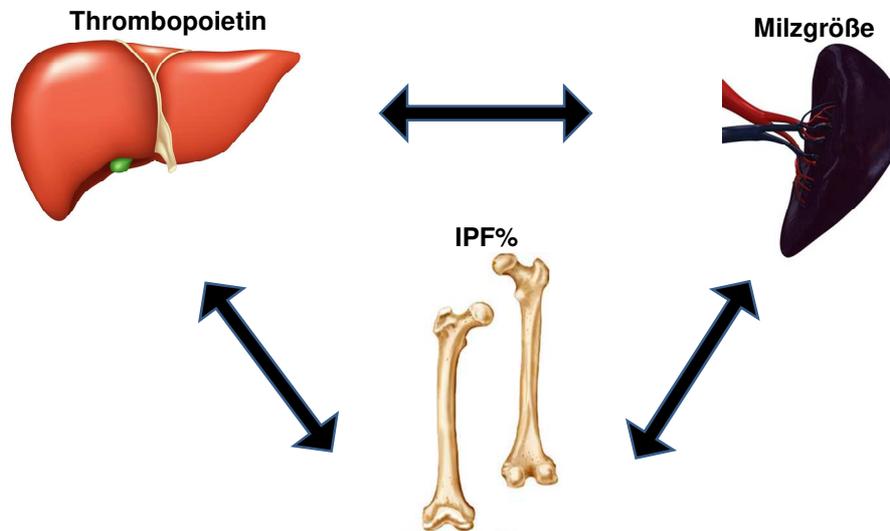
Abbildung 20: Kaplan-Meier Diagramm: IPF% ober- und unterhalb des Referenzwertes von 3,2%

---

## **7. Diskussion**

### **7.1 Ursachen der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose**

Ziel unserer Studie bei 88 Patienten mit Leberzirrhose, die in der Klinik für Innere Medizin II der Universitätsklinik des Saarlandes im Zeitraum von März 2013 bis Januar 2014 stationär behandelt wurden, ist es, die Bedeutung der Bestimmung von IPF%, Thrombopoietin und dem Längsdurchmesser der Milz für die Ursachenklärung der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose zu erforschen. Die Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose stellt eine häufige und schwerwiegende Komplikation dar. Nach oben genannter Definition zeigen 59 Patienten (67 %) in unserer Studie eine Thrombozytopenie, was vergleichbar mit anderen Studien ist. [98] Man geht bei der Pathogenese von einem multifaktoriellen Geschehen aus, wobei als mögliche Ursachen eine vermehrte Sequestration von Thrombozyten in der Milz, eine verminderte Thrombopoese im Knochenmark, z.B. durch eine chronische Infektion mit HCV, oder eine verringerte Produktion von Thrombopoietin in der Leber diskutiert werden. [72, 99]



**Abbildung 21: Ursache der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose: Dabei soll die Milzgröße als Maß der Sequestration dienen, IPF% spiegelt die Aktivität des Knochenmarks wider und Thrombopoietin stellt einen Marker für die Syntheseleistung der Leber dar, in der es hauptsächlich gebildet wird.**

Erste Erklärungsmodelle für die Entstehung der Thrombozytopenie fokussierten auf die durch die portale Hypertension vergrößerte Milz. Bereits 1966 konnte Aster zeigen, dass eine normal große Milz nur ein Drittel der im Körper vorhandenen Thrombozyten aufnimmt und die übrigen zwei Drittel in der Zirkulation verbleiben, wohingegen eine vergrößerte Milz 50% bis 90% der Thrombozyten aufnehmen kann; daraus folgte er, dass eine Thrombozytopenie trotz suffizienter Thrombopoese entstehen kann. [100] Die Behandlung der portalen Hypertension geht jedoch nicht zwangsläufig mit einer Remission der Thrombozytopenie einher. Auch gibt es Patienten mit Thrombozytopenie, die keine Splenomegalie zeigen. [99, 101, 102] Trotzdem stehen mit der partiellen Embolisation der Milzarterien und der Splenektomie therapeutische Verfahren zur Verfügung, die einen Anstieg der Thrombozyten bewirken [103, 104], woraus

---

sich ableiten lässt, dass eine vergrößerte Milz an der Entstehung der Thrombozytopenie beteiligt ist.

In unserem Patientenkollektiv findet sich eine im Mittel auf 135 mm vergrößerte Milz, wobei 73 Patienten (83 %) eine über 110 mm vergrößerte Milz aufweisen. Die Thrombozytenzahl zeigt eine hohe, signifikante inverse Korrelation mit der Milzgröße. Beim weiteren Vergleich zwischen schwerer, moderater und milder Thrombozytopenie zeigt sich in der einfaktoriellen ANOVA ebenfalls ein signifikanter Unterschied der Untergruppen. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Splenomegalie eine wichtige Rolle bei der Entwicklung einer Thrombozytopenie in unserem Patientenkollektiv spielt. Unsere Ergebnisse bestätigen damit die Daten der Studie von Zucker et al. [105] aus dem Jahr 2012 an Patienten mit chronischer HCV-Infektion. Sie konnten zeigen, dass eine Splenomegalie häufiger bei Patienten mit Thrombozytopenie als bei Patienten ohne Thrombozytopenie auftritt (66% vs. 6%,  $p < 0,001$ ) und dass in der multivariaten Analyse eine Splenomegalie der Faktor mit dem höchsten relativen Risiko für eine Thrombozytopenie ist (RR= 1.9,  $p < 0,05$ ).

Die Folgen einer chronischen HCV-Infektion auf die Thrombozytenzahl im Blut beschreiben Olariu et al. [106] in ihrer Studie. Es konnte gezeigt werden, dass zwei Mechanismen an der Entstehung einer Thrombozytopenie beteiligt sind: Zum Einen ist dies ein zentraler Mechanismus, der über die Beeinflussung der Megakaryozyten des Knochenmarkes wirkt, zum Anderen ein peripherer Mechanismus, der über die Bildung von PAIgG (platelet associated immunoglobulin G), welches mit Glykoproteinen der Thrombozytenoberfläche reagiert, zum Abbau durch das Retikuloendotheliale System führt. Zudem kann ein chronischer Alkoholabusus eine Myelosuppression zur Folge haben, welche die Thrombozytopenie verstärkt. [107, 108] In unserer Studie konnte kein Einfluss der Ätiologie auf die Thrombozytopenie nachgewiesen werden.

Um bei Patienten mit Leberzirrhose die thrombopoetische Aktivität des Knochenmarkes zu beurteilen, lässt sich als Surrogatparameter IPF%

---

heranziehen. [109] Der Mittelwert von IPF% liegt in unserem Patientenkollektiv bei 5,7% und damit nach Briggs et al. [87] innerhalb des Referenzwertes (1,1% - 6,1%), nach Jung et al. [95] und Ko et al. [96] (0,5 - 3,3%) oberhalb davon. Dies lässt darauf schließen, dass die Thrombopoese im Knochenmark unserer Patienten mit Leberzirrhose nicht eingeschränkt ist und damit in unserer Studie eine eher untergeordnete Rolle spielt. Unterstützt wird diese These durch eine signifikante inverse Korrelation von Thrombozytenzahl und IPF% ( $r = -,341$ ,  $p = 0,001$ ), die auch bei gesunden Probanden zu beobachten ist [94]. Vielmehr deutet der Vergleich von IPF% bei Patienten mit und ohne Thrombozytopenie darauf hin, dass bei Thrombozytopenie eine reaktive Steigerung der Thrombopoese initiiert wird, da der Mittelwert von IPF% bei Patienten mit Thrombozytopenie im Vergleich zu Patienten ohne Thrombozytopenie in unserer Studie erhöht ist und gleichzeitig eine Tendenz zu höheren TPO-Werten bei Patienten mit Thrombozytopenie besteht. Zucker et al. [105] fanden ebenfalls eine inverse Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und IPF% und auch signifikant höhere IPF%-Werte bei Patienten mit Thrombozytopenie im Vergleich zu Patienten ohne Thrombozytopenie. Dabei war in der multivariaten Analyse ein Anstieg der IPF%-Werte signifikant mit einer Thrombozytopenie assoziiert.

Die Bedeutung von TPO für die Entwicklung einer Thrombozytopenie verdeutlichen Peck-Radosavljevic et al. [76] in ihrer Studie an Patienten mit Leberzirrhose und Thrombozytopenie. Bei 7 Patienten war vor einer orthotopen Lebertransplantation TPO im Plasma nicht nachweisbar. Zwei Tage nach der Transplantation stiegen die Werte an und 6 Tage später auch die Thrombozytenzahl. Danach fielen die TPO-Werte wieder unter die Nachweisgrenze. Sie schließen daraus, dass trotz der pathophysiologischen Bedeutung der Sequestration der Thrombozyten bei Splenomegalie und der pathologischen Effekte einer HCV-Infektion auf die Thrombopoese bei Patienten mit schwerer Thrombozytopenie und Leberzirrhose ein Mangel an TPO einer der Hauptgründe für die Entstehung einer Thrombozytopenie zu sein scheint. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen Kawasaki et al. [110] Sie beschreiben in ihrer

---

Studie an Patienten mit chronischer Hepatitis und Leberzirrhose, dass in frühen Stadien einer chronisch viralen Hepatitis erhöhte Serum-TPO-Werte zu messen sind, wobei beim Fortschreiten der Erkrankung mit Übergang der Fibrose in eine Zirrhose eine Erniedrigung der TPO-Produktion in der Leber eine Ursache für die Entstehung der Thrombozytopenie sei. Dabei zeigten sich um 98% erhöhte TPO-Werte bei Patienten mit Fibrose Stadium I im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe, um 50% erhöhte Werte bei Fibrose Stadium II, um 21% erhöhte Werte bei Fibrose Stadium III und um 4% erniedrigte Werte bei Zirrhose.

Dem widersprechen jedoch sowohl die Ergebnisse der Studie von Zucker et al. [105] als auch die Ergebnisse der Studie von Temel et al. [79]. Zucker et al. [105] fanden keine signifikanten Unterschiede der TPO-Werte bei Patienten mit bzw. ohne Thrombozytopenie, und auch in der multivariaten Analyse waren die TPO-Werte nicht mit dem Risiko für eine Thrombozytopenie assoziierbar. Daraus und aus den oben genannten Ergebnissen bezüglich des Zusammenhangs von Thrombozytopenie und Milzgröße folgerten sie, dass in ihrer Studie nicht die erniedrigten TPO-Werte, sondern eine periphere Thrombozytendestruktion oder -sequestration den Hauptmechanismus für die Entstehung einer Thrombozytopenie darstelle.

Temel et al. [79] kommen in ihrer Studie von 2014 an Patienten mit Leberzirrhose, die bereits in Kapitel 4.5 erläutert wurde, zu demselben Schluss. Ihre Ergebnisse zeigen, dass auch bei fortgeschrittener Erkrankung eine Zirrhose nicht als Ursache für eine beeinträchtigte TPO-Synthese zu werten ist, da der Vergleich der TPO-Werte in den einzelnen Child-Stadien keine signifikanten Unterschiede erbrachte und die Kontrollgruppe im Mittel sogar signifikant niedrigere TPO-Werte aufzeigte (49 ng/l ohne Leberzirrhose vs. 69 ng/l mit Leberzirrhose), somit die TPO-Werte keinen Einfluss auf die Entstehung einer Thrombozytopenie haben. Zudem zeigt sich eine signifikante inverse Korrelation zwischen Thrombozyten und Serum-TPO-Werten, was als physiologisch angesehen wird. [74]

Der Mittelwert von Thrombopoietin liegt in unserer Studie bei 67 ng/l und damit leicht unterhalb des Referenzbereichs von 70-100 ng/l. Dies ist vergleichbar mit

---

den Ergebnissen von Temel et al. [79] Dabei besteht eine nicht signifikante Tendenz zu höheren TPO-Werten bei niedrigeren Thrombozytenzahlen. Dies entspricht ebenfalls den Ergebnissen von Temel et al. [79] Wir fanden ebenfalls eine signifikante inverse Korrelation von Thrombozytenzahl und TPO-Werten, welche für eine physiologische Regulation der Thrombopoese spricht. Schöffski et al. [80] konnten in ihrer Studie keine Korrelation zwischen der Gesamtthrombozytenzahl und TPO bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung feststellen. Als Besonderheit zeigten sich jedoch erhöhte TPO-Werte bei Patienten mit chronischer viraler Hepatitis im Vergleich zu anderweitig leberkranken Patienten.

In diesem Zusammenhang ist die Studie von Kuter et al. [74] über die physiologischen Zusammenhänge zwischen den im Serum zu messenden TPO-Konzentrationen und der Thrombozytenzahl interessant, die den Nachweis einer inversen Korrelation beider Parameter erbrachte. Bei der in vitro Untersuchung von thrombozytopenem Serum von Hasen, welches erhöhte TPO-Konzentrationen enthielt, konnte nachgewiesen werden, dass die Zugabe von Thrombozyten zu einem Absinken der Thrombopoietin-Konzentration führte. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Thrombozyten den Thrombopoietin-Rezeptor c-MPL an ihrer Oberfläche tragen und an der Regulation von TPO im Serum beteiligt sind. [73] Es stellt sich dadurch jedoch die Frage, ob eine erniedrigte Serum-Thrombopoietin-Konzentration in Folge einer Leberfunktionsstörung die Ursache für eine erniedrigte Thrombozytenzahl bei Patienten mit Leberzirrhose ist, oder ob eine erhöhte Aufnahme von Thrombopoietin durch vermehrte Bindung an c-MPL mit konsekutiver Aufnahme in die Zelle bei Patienten mit Leberzirrhose und Thrombozytopenie zu einer sekundär erniedrigten Serum-TPO-Konzentration führt. Es besteht somit die Möglichkeit, dass eine erniedrigte TPO-Konzentration nicht die Ursache, sondern die Folge einer Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose ist und dass die Bestimmung der TPO-Konzentrationen im Serum von Patienten mit Leberzirrhose deshalb kein geeigneter Parameter zur Beurteilung der tatsächlichen TPO-Synthese der

---

Leber ist. Um diese Fragen zu klären könnte untersucht werden, wie sich das Verhalten der Thrombozyten zu Thrombopoietin bei Patienten mit Leberzirrhose von gesunden Probanden unterscheidet und ob sich die Affinität oder die Signaltransduktion nach der Bindung von Ligand und Rezeptor bei Thrombozyten bzw. c-MPL-tragenden Zellen bei Patienten mit Leberzirrhose im Vergleich zu Thrombozyten gesunder Probanden ändert.

Ein weiterer interessanter Aspekt ist, dass wir keine signifikante Korrelation zwischen Thrombopoietin und IPF% ermitteln konnten. Da die physiologische Aufgabe von TPO darin besteht die Thrombopoese anzuregen, wäre eine Korrelation im Sinne erhöhter IPF%-Werte bei steigenden Konzentrationen des Wachstumsfaktors TPO zu erwarten gewesen. Ableiten kann man dies auch aus den Studien von Peck-Radosavljevic et al. [76] und Mao et al. [91], die die Veränderungen von Thrombopoietin und IPF% nach Lebertransplantation untersucht haben. Dabei zeigte sich, dass nach einer Lebertransplantation sowohl TPO als auch IPF% innerhalb weniger Tage stark anstiegen, um dann im Verlauf wieder auf normale Werte abzufallen. Konsekutiv kam es in beiden Studien zu einem Anstieg der Thrombozytenzahl auf normale Werte. Peck-Radosavljevic et al. [76] folgerten daraus, dass nach Transplantation einer gesunden Leber die physiologische Regulation der Thrombozyten wieder möglich ist und dass daher ein Leberschaden mit konsekutiv eingeschränkter TPO-Synthese Ursache für die Thrombozytopenie sei. In unserer Studie an Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose konnten wir jedoch sowohl für TPO als auch für IPF% physiologisch inverse Korrelationen zur Thrombozytenzahl feststellen. Die Regulationsmechanismen scheinen folglich auch bei Patienten mit Leberzirrhose noch zu funktionieren. Hier stellt sich die Frage, ob diese Regulationsmechanismen mit Fortschreiten der Leberzirrhose in das Stadium Child C versagen. Die geringe Anzahl an Patienten in diesem fortgeschrittenen Stadium in unserer Studie erlaubt uns jedoch nicht, darüber valide Aussagen zu treffen. Zudem stellt sich die Frage, ob die fehlende Korrelation zwischen TPO und IPF% bei Leberzirrhose als ein Hinweis auf eine gestörte Interaktion von Rezeptor und Ligand im Sinne der oben beschriebenen

---

Theorie zu werten ist, oder ob bei Patienten mit Leberzirrhose weitere, bisher unbekannte Faktoren Einfluss auf die Thrombopoese nehmen.

Eine 2015 veröffentlichte Studie von Tana et al. über die Zusammenhänge zwischen Thrombozytenzahl, TPO, IPF%, ImmunglobulinG und der Milzgröße bei Patienten mit chronischer Hepatitis C konnte ähnlich unserer Studie zeigen, dass negative Korrelationen zwischen Thrombozytenzahl und TPO sowie Thrombozytenzahl und IPF% bestehen. Zudem bestand ein linearer Zusammenhang zwischen Milzgröße und Thrombozytenzahl. Sie folgern daraus, dass spezifischere Untersuchungen über die Ursachen und Folgen der Splenomegalie Hinweise auf die pathophysiologischen Zusammenhänge liefern könnten. [111]

Da in den meisten Studien, wie auch in unserer, hauptsächlich die Kompartimente Milz, Knochenmark und Leber bei der Untersuchung der Pathogenese der Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose betrachtet werden, wird im Folgenden auf die Arbeit von Kalambokis et al. [112] eingegangen, die in ihrer Studie den Darm und dessen bakterielle Flora als neues Kompartiment betrachten. Patienten mit Leberzirrhose und Thrombozytopenie wurden über einen vierwöchigen Zeitraum mit einer täglichen Dosis von 1200 mg des nicht resorbierbaren Breitbandantibiotikums Rifaximin behandelt. Danach konnten sie einen signifikanten Anstieg der Thrombozytenzahl verzeichnen. Erklärt wird dies durch die Behandlung der SIBO (Small intestinal bacterial overgrowth), die eine Endotoxämie verursacht und auch bei der Entstehung der SBP von Bedeutung ist. Durch eine Dekontamination des Darmes kann eine Reduktion der Endotoxinämie und des Pfortaderdrucks erreicht werden. [113] Dies ist ein Hinweis dafür, dass immunologische Prozesse ein wichtiger Faktor für die Entstehung einer Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose sein können. Diese Ergebnisse bekräftigen noch einmal mehr die These, dass die Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose einer multifaktoriellen Genese unterliegt.

---

Zusammenfassend lässt sich für unsere Studie sagen, dass der Grad der Splenomegalie, aufgrund des statistisch signifikanten Unterschiedes des Längsdurchmessers der Milz bei den verschiedenen Graden der Thrombozytopenie, den wichtigsten Einflussfaktor für die Entwicklung einer Thrombozytopenie bei Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose darstellt, wohingegen die nicht signifikanten Unterschiede für IPF% und TPO bei den verschiedenen Graden der Thrombozytopenie und die inversen Korrelationen der Thrombozytenzahl mit IPF% und TPO für eine physiologische Regulation der Thrombozytenzahl sprechen. Es besteht bei Patienten mit Leberzirrhose keine zentrale Bildungsstörung der Thrombozyten im Knochenmark und auch keine eingeschränkte Thrombopoietin-Synthese in der Leber, da IPF% als Surrogatparameter für die thrombopoetische Aktivität des Knochenmarkes signifikant erhöht und TPO als Wachstumsfaktor für Megakaryozyten bei schwerer Thrombozytopenie nicht erniedrigt ist. Es kann demzufolge in unserer Studie von einem peripheren Verbrauch bzw. einer Sequestration oder einem Pooling der Thrombozyten durch die vergrößerte Milz ausgegangen werden.

## **7.2 IPF%, Thrombopoietin und Thrombozyten und der Grad der Leberzirrhose**

Die Diagnose einer Leberzirrhose kann heute nach klinischer und laborchemischer Untersuchung in Zusammenschau mit den Befunden der Abdomensonographie gestellt werden. Es wird angestrebt eine Leberbiopsie, die früher häufiger durchgeführt wurde, aufgrund ihres invasiven Charakters, zu vermeiden. Sie ist dennoch indiziert, wenn Ätiologie und Stadium der Lebererkrankung durch oben genannte Untersuchungen nicht eindeutig zu identifizieren sind und sich durch das Untersuchungsergebnis therapeutische Konsequenzen ergeben. Um eine Biopsie zu umgehen, wurden in den letzten Jahren mehrere laborchemische und ultraschallunterstützte Verfahren entwickelt, die die Diagnostik der Leberzirrhose unterstützen. Dazu gehören der bereits im

---

Zusammenhang mit den Ösophagusvarizen genannte APRI (AST-to-platelet-ratio-index) sowie die transiente Elastographie, die zur Beurteilung des Stadiums der Leberfibrose die Lebersteifigkeit heranzieht. [114, 115] Unser Ziel war es herauszufinden, inwieweit die Bestimmung von IPF%, TPO, der Milzgröße und der Thrombozytenzahl Hinweise auf das Stadium der Leberzirrhose gibt.

Die in der Einleitung in Kapitel 4.5 bereits vorgestellte Studie von Nomura et al. [94] behandelt die Zusammenhänge zwischen IPF% und Leberzirrhose. Aufgrund der Tatsache, dass bei allen Patienten mit Lebererkrankung im Vergleich zur Kontrolle erhöhte IPF%-Werte zu finden waren, jedoch bei Patienten mit chronischer Hepatitis und bei Lebergesunden eine signifikante, inverse Korrelation zwischen IPF% und der Thrombozytenzahl bestand, nicht jedoch bei Patienten mit Leberzirrhose, folgerten sie, dass sie durch diesen Unterschied den Übergang in das Stadium der Zirrhose erkennen könnten. Weiterhin führten sie aus, dass die thrombopoetische Aktivität des Knochenmarkes bei Patienten mit Leberzirrhose eingeschränkt sei, da bei Gesunden eine inverse Korrelation zwischen IPF% und der Thrombozytenzahl zu erwarten sei [116], welche sie nicht nachweisen konnten.

Diese Ergebnisse sind zu bezweifeln, da wir in unserer Studie eine signifikant inverse Korrelation zwischen IPF% und Thrombozytenzahl ermitteln konnten. Es stellt sich die Frage, ob die geringe Anzahl an Patienten mit Leberzirrhose ( $n = 20$ ) in der Studie von Nomura et al. [94] der Grund für die fehlende Korrelation von IPF% und Thrombozytenzahl sein könnte.

Unsere weiteren Untersuchungen ergaben für die Gruppen Child A, B und C einen signifikanten Unterschied für den Parameter IPF%. Dabei lagen im Stadium Child C die höchsten IPF%-Werte vor. Aufgrund der geringen Patientenzahl mit Stadium Child C ( $n = 9$ ) ist hier jedoch von einer eingeschränkten Aussagekraft auszugehen. Der Zusammenhang macht die These eines Anstiegs der IPF%-Werte mit fortschreitendem Grad der Leberzirrhose denkbar, sollte jedoch durch weitere Studien untermauert werden.

---

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Bestimmung von IPF% eine sinnvolle Ergänzung zur Beurteilung des Schweregrades der Leberzirrhose sein könnte.

Statistisch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Child-Stadien für TPO, die Milzgröße und die Thrombozytenzahl ermittelt werden, jedoch lässt sich eine nicht signifikante Tendenz zu niedrigeren Thrombozytenzahlen und TPO-Werten bei fortschreitendem Child-Stadium erkennen. Bezüglich der Zusammenhänge zwischen dem Grad der Leberzirrhose und den TPO-Werten decken sich unsere Ergebnisse mit denen von Schöffski et al. [80] und Temel et al. [79]. Schöffski et al. [80] fanden in ihrer Studie von 2002 weder signifikante Unterschiede der TPO-Werte zwischen Patienten mit chronischer Lebererkrankung und Gesunden, noch zwischen den einzelnen Child-Stadien und Patienten ohne Leberzirrhose. Zudem lag keine Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und TPO-Werten vor. Temel et al. [79] konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen TPO-Werten und Grad der Leberzirrhose nach Child-Pugh feststellen.

Da wir jedoch in unserer Studie an Patienten mit Leberzirrhose eine signifikante inverse Korrelation zwischen Thrombozyten und Thrombopoietin feststellen konnten, was als physiologisch angesehen wird, und zudem keine Zusammenhänge zu Child-Pugh-Score und MELD-Score zu ermitteln waren, ist von einer geringen Bedeutung der TPO-Bestimmung bei der Beurteilung des Zirrhosegrades auszugehen. Die nicht signifikante Tendenz zu niedrigeren TPO-Werten und Thrombozytenzahlen mit fortschreitendem Child-Stadium und MELD-Score lässt vermuten, dass eine eingeschränkte Syntheseleistung der Leber und damit eine verminderte TPO-Produktion Ursache für die Thrombozytopenie sein könnte. Dem widerspricht jedoch die Tatsache, dass in unserer Studie bei zunehmender Thrombozytopenie höhere TPO-Werte zu messen sind. Die Frage nach der Bedeutung der Thrombopoietin-Bestimmung bei Patienten mit Leberzirrhose bleibt aufgrund der vielfältigen Studienergebnisse mit zum Teil gegensätzlichen Ergebnissen unbeantwortet und bedarf weiterer Studien mit größeren Patientenzahlen.

Zusammenfassend konnten wir in unserer Studie nur für IPF% einen signifikanten Unterschied zwischen den Child-Stadien ermitteln. Dies spricht dafür, dass die Bestimmung von IPF% bei Patienten mit Leberzirrhose einen zusätzlichen Nutzen zur Beurteilung des Schweregrades hat. Da wir in unserer Arbeit diesen Zusammenhang erstmals beschreiben, empfehlen wir, die Ergebnisse durch weitere Studien zu validieren. Eine weitere Betrachtung dieser Zusammenhänge sollte die unterschiedlichen Ätiologien der Leberzirrhose sowie die Alkoholabstinenz mit einbeziehen. Die Bestimmung der TPO-Konzentration im Serum von Patienten mit Leberzirrhose spielt bei der Beurteilung des Zirrhosegrades nach unseren Ergebnissen eine untergeordnete Rolle, da wir lediglich eine physiologische inverse Korrelation zwischen Thrombozytenzahl und Thrombopoietin in unserer Studie fanden und keine signifikante Verminderung der TPO-Konzentrationen im Serum der Patienten bei zunehmendem Leberzirrhose-Grad nachgewiesen werden konnte. Gleichzeitig liefert die aktuelle Studienlage keine eindeutigen Erkenntnisse über die Veränderungen der Serum-TPO-Konzentration bei Patienten mit Leberzirrhose. Jedoch ist die Theorie einer eingeschränkten Syntheseleistung der Leber und damit Thrombopoietin-Synthese bei fortschreitender Leberzirrhose durch unsere Studie nicht widerlegt; vielmehr wird sie durch die beschriebene Tendenz zu niedrigeren TPO-Konzentrationen bei höherem Child-Stadium sogar untermauert.

### **7.3 IPF% und Thrombozyten als prädiktive Parameter für das Auftreten von Komplikationen der Leberzirrhose und Mortalität**

Bei Patienten mit Leberzirrhose erfolgt beim Auftreten von Komplikationen eine rapide Verschlechterung der Prognose. Die Entwicklung von Aszites geht mit einer Ein-Jahres-Mortalitätsrate von 20% einher [38]. Bei Patienten, die eine Episode einer SBP durchgemacht haben, liegt die Lebenserwartung im ersten Jahr bei 30-50% [12]. Eine Ösophagusvarizenblutung geht mit einer

---

Mortalitätsrate von 50% innerhalb der ersten 6 Wochen einher [17], und das Auftreten eines HRS ist mit einem mittleren Überleben von einem Monat bei Typ I und 6,7 Monaten bei Typ II behaftet [34]. Daher ist das rechtzeitige und zuverlässige Erkennen einer Dekompensation der Leberzirrhose sinnvoll und wichtig. Wir haben in unserer Studie untersucht, welche Zusammenhänge zwischen dem Vorliegen der verschiedenen Komplikationen der Leberzirrhose und den Parametern IPF% und Thrombozytenzahl bestehen.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass es einen Zusammenhang zwischen IPF% und dem Vorliegen von Ösophagusvarizen gibt. Dabei sind im Mittel höhere IPF%-Werte bei Patienten mit Ösophagusvarizen im Vergleich zu Patienten ohne Ösophagusvarizen zu finden. Weiterhin sind signifikante Unterschiede zwischen dem Ausprägungsgrad der Ösophagusvarizen, mit höheren IPF%-Werten bei Zunahme des Grades, vorhanden.

Nach Briggs et al. [87] spricht eine Erhöhung der IPF%-Werte für einen peripheren Verbrauch oder Verlust von Thrombozyten und gegen eine Bildungsstörung im Knochenmark. Daraus kann geschlossen werden, dass das Vorliegen von Ösophagusvarizen mit einem peripheren Verbrauch von Thrombozyten einhergehen könnte. Dazu passen die Ergebnisse von Gana et al. [50] und Tafarel et al. [51], die besagen, dass erniedrigte Thrombozytenzahlen mit dem Vorliegen von Ösophagusvarizen assoziiert sind. Es stellt sich nun die Frage, wie Ösophagusvarizen zu einem Verbrauch von Thrombozyten führen und warum wir nur für IPF% und Ösophagusvarizen und nicht für die übrigen Komplikationen der Leberzirrhose, wie eine Ösophagusvarizenblutung, signifikante Zusammenhänge ermitteln konnten.

Dazu kann man die Arbeit von Stein et al. [117] von 1982 heranziehen, die sich mit den Zusammenhängen zwischen Thrombozyten, Fibrinogen und Plasminogen bei Leberzirrhose beschäftigt. Sie stellten die These auf, dass Thrombozyten bei Stase an unvollständig endothelialisierten, endovaskulären Oberflächen in der Leber aktiviert und verbraucht werden, was sekundär zu einer Bildung von Fibrin führt. Dies kann man indirekt durch einen erhöhten Umsatz

---

von Fibrinogen und erniedrigte Plasminogen-Konzentrationen erkennen. [117] In den Venen des Ösophagus nimmt durch die Erweiterung des Lumens die Flussgeschwindigkeit ab, wodurch es ebenfalls zu einer Thrombozytenaktivierung kommen könnte, die einen erhöhten Verbrauch zur Folge hat. Gegeregulatorisch könnte dies zu einer erhöhten Thrombopoese mit erhöhten IPF%-Werten führen. Alternativ könnte eine gleichzeitig vorliegende Splenomegalie durch ein vermehrtes Thrombozyten-Pooling mit konsekutivem Abbau, wie von Aster [100] beschrieben, oben genannten Zusammenhang verfälschen. Um dies zu differenzieren könnte untersucht werden, ob bei Patienten mit Ösophagusvarizen, ohne das gleichzeitige Vorliegen einer Splenomegalie, erhöhte IPF%-Werte zu bestimmen sind.

Durch die Erstellung einer ROC-Kurve für IPF% und das Vorliegen von Ösophagusvarizen ließen sich bei einer Fläche unter der Kurve von 0,669 und einem Cut-off-Wert für IPF% von 3,85% nur eine Sensitivität von 76,6% und eine Spezifität von 52,4% ermitteln. Dies spricht dafür, dass dies keine hilfreiche Methode ist, um Rückschlüsse auf das Vorliegen von Ösophagusvarizen zu ziehen. Dennoch sollten aufgrund der Einschränkungen unserer Studie und der Tatsache, dass es keine vergleichbaren Studien gibt, wegen der signifikanten Zusammenhänge zwischen IPF% und Ösophagusvarizen in der univariaten Analyse weitere Studien angestrebt werden, um zu überprüfen, ob sich IPF% als prädiktiver Parameter für das Vorliegen von Ösophagusvarizen eignet. Die Bestimmung von IPF% ist schnell und kostengünstig möglich und könnte als nicht-invasiver Parameter die Beurteilung von Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose erleichtern.

Bei der Beurteilung von IPF% als prädiktiver Parameter für die Mortalität innerhalb von 90 Tagen konnten keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden. IPF% eignet sich in unserer Studie nicht als Prognosemarker. Jedoch ist zu beachten, dass ein Nachbeobachtungszeitraum von 90 Tagen kurz ist und dass die Ereignisdichte niedrig ist.

Die Thrombozytenzahl wurde in anderen Arbeiten weitaus häufiger bei Patienten mit Leberzirrhose und deren Komplikationen untersucht. Im vorangehenden Kapitel ist durch die Studien von Udell et al. [84] und Murali et al. [118] eine Assoziation zwischen Thrombozytopenie und dem Vorliegen einer Leberzirrhose beschrieben worden. Guarner et al. [49] fanden einen Zusammenhang zwischen erniedrigten Thrombozytenzahlen und dem Auftreten einer ambulant erworbenen SBP bei Patienten mit Leberzirrhose. Tafarel et al. [51] führten aus, dass eine Thrombozytopenie ein unabhängiger Prädiktor für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen ist. In Kapitel 4.3 zeigt die Studie von Bleibel et al. [48], dass eine Thrombozytopenie mit einer erhöhten Mortalität einhergeht.

Trotz all dieser Zusammenhänge konnten wir in unserer Studie die Thrombozytenzahl weder mit dem Grad der Leberzirrhose nach Child-Pugh und MELD, noch mit Ösophagusvarizen und deren Blutung assoziieren, auch nicht mit Aszites, SBP, HRS oder dem Überleben innerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes. Unsere Ergebnisse sind jedoch nur eingeschränkt verwertbar, da wir nicht untersucht haben, ob die Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung abstinent waren oder ob sie myelosuppressive Medikamente eingenommen haben.

Neben Thrombozyten und IPF% wurden in kleineren Studien weitere Parameter, wie das NT-proBNP, auf ihre prädiktive Wertigkeit bei Patienten mit Leberzirrhose untersucht. Wir haben in unserer Studie ebenfalls NT-proBNP bestimmt, um die Ergebnisse von Ljubicic et al. [57], die in Kapitel 4.3.2 bereits erläutert wurden, zu validieren. Patienten mit Leberzirrhose zeigen eine hyperdynamische Zirkulation mit erhöhter Herzfrequenz und erhöhtem Herzzeitvolumen bei erniedrigtem Blutdruck und vermindertem peripheren Widerstand. [119] Natriuretische Hormone, wie ANP und BNP, können als Gegenspieler zu SNS und RAAS angesehen werden, die an der Entstehung der hyperdynamischen Zirkulation beteiligt sind, da sie das RAAS hemmen und über eine Natriuresis und folglich Diuresis die Vorlast senken. ProBNP wird infolge

---

eines Dehnungsreizes bei Volumenbelastung von Myokardzellen der Ventrikel in die Blutbahn ausgeschüttet. Danach wird es in aktives BNP und das N-terminale Fragment des proBNP (NT-proBNP) gespalten, welches selbst keine Wirkung am Rezeptor entfaltet, aber aufgrund seiner längeren Halbwertszeit mit größerer Genauigkeit gemessen werden kann. Bei Patienten mit Leberzirrhose können im Vergleich zu Gesunden signifikant erhöhte Plasma-Konzentrationen von proBNP und BNP gemessen werden. [120] Aufgrund dieser Erkenntnis haben Ljubicic et al. [57] untersucht, ob es Zusammenhänge zwischen NT-proBNP und dem Vorliegen von Ösophagusvarizen gibt. Hier wurde gezeigt, dass sich ein NT-proBNP-Wert  $> 101$  pg / mL bei Patienten mit Leberzirrhose als Marker für das Vorhandensein von Ösophagusvarizen eignen könnte.

In unserer Studie konnten wir keine signifikant unterschiedlichen NT-proBNP-Werte bei Patienten mit bzw. ohne Ösophagusvarizen ermitteln. Dies entspricht den Ergebnissen von Yildiz et al. [58], die zwar BNP selbst und nicht NT-proBNP bestimmt haben, aber auch keine signifikanten Unterschiede detektierten. Sie konnten jedoch zeigen, dass bei Patienten mit Aszites, SBP und hepatischer Enzephalopathie die BNP-Werte signifikant erhöht waren. Mit unserer Arbeit können wir bestätigen, dass Aszites und SBP mit signifikant erhöhten NT-proBNP-Werten assoziiert sind. Die Erstellung einer ROC-Kurve für NT-proBNP und Aszites ergab eine Sensitivität von 77,1% und eine Spezifität von 66,7%. Besser waren die Werte für NT-proBNP und SBP; hier ergab sich eine Sensitivität von 85,7% bei einer Spezifität von 75,7%. Dadurch kann in unserer Studie NT-proBNP für die Abschätzung von Komplikationen der Leberzirrhose eine hohe Wertigkeit zugesprochen werden.

#### **7.4 Schlussfolgerung und Ausblick**

Die Ergebnisse unserer Studie bei Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose zeigen wie komplex die Zusammenhänge zwischen der Grunderkrankung und deren Komplikationen sind. Letztendlich konnten wir nachweisen, dass die Splenomegalie eine wichtige Rolle bei der Entstehung der

---

Thrombozytopenie bei Patienten mit mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose spielt. Jedoch konnten wir nicht ausschließen, dass eine eingeschränkte Thrombopoietin-Synthese in der Leber einen Einfluss auf die Thrombozytenzahl im Blut hat. Die Zusammenhänge zwischen der Immature Platelet Fraction und den Thrombozyten deuten dabei auf erhaltene physiologische Regulationsprozesse der Thrombozytenzahl im Blut bei mäßig fortgeschrittener Leberzirrhose hin. Unsere Ergebnisse machen deutlich, dass selbst die weite Betrachtung mehrerer die Thrombozytenzahl beeinflussender Kompartimente nicht zur definitiven Festlegung einer einzigen Ursache für die Thrombozytopenie bei Patienten mit Leberzirrhose ausreicht. Vielmehr kristallisieren sich neue Fragen heraus. Zum einen muss nach der Entdeckung der Rolle des Ashwell-Morell-Rezeptors für die Thrombozytenhomöostase erforscht werden, ob weitere Parameter existieren, welche die Thrombopoietin-Konzentration im Serum beeinflussen und wie sich diese Einflüsse, insbesondere auch die Sialysierung der Thrombozyten und die Funktion des AMR, bei Patienten mit Leberzirrhose verändern. Zum anderen wurden die physiologischen Zusammenhänge zwischen Thrombopoietin und der Immature Platelet Fraction bisher noch nicht explizit beschrieben, was die Interpretation unserer Ergebnisse erschwert.

Unsere Ergebnisse deuten zudem darauf hin, dass die Bestimmung der Immature Platelet Fraction Hinweise auf den Grad der Leberzirrhose sowie das Vorliegen von Ösophagusvarizen gibt. Diese Zusammenhänge werden durch unsere Studie erstmalig beschrieben. Dabei ist jedoch die ungleichmäßige Verteilung der Patienten auf die Child-Stadien zu beachten, die zu einer Verzerrung der Ergebnisse insbesondere bezüglich des Leberzirrhose-Grades geführt haben könnte. Die Bedeutung von IPF% allgemein und vor allem im Zusammenhang mit einer Leberzirrhose ist bisher nur in einzelnen kleinen Studien erforscht worden. Daher sollte zur Beurteilung des Nutzens der Bestimmung von IPF% bei Patienten mit Leberzirrhose zunächst im Rahmen von Längsschnittstudien untersucht werden, wie sich IPF% bei gesunden Probanden im Verlauf des Lebens verhält und ob im Vergleich zu Patienten mit Leberzirrhose Unterschiede bestehen, insbesondere bei der Betrachtung des

Verlaufs von Stadium Child-A hin zu Stadium Child-C. In diesem Zusammenhang sollte dann auch untersucht werden, ob sich bei der Entwicklung von Ösophagusvarizen Veränderungen der IPF%-Werte zeigen. Damit geht die Suche nach guten prädiktiven Parametern für das Auftreten von Komplikationen der Leberzirrhose und die Mortalität weiter. Es wird sich erst zeigen, ob die Immature Platelet Fraction als prädiktiver Parameter etabliert werden kann.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Schuppan, D. and Afdhal, N.H., *Liver Cirrhosis*. Lancet, 2008. 371(9615): 838-851.
2. Karlmark, K.R., et al., *Hepatic Recruitment of the Inflammatory Gr1+ Monocyte Subset Upon Liver Injury Promotes Hepatic Fibrosis*. Hepatology, 2009. 50: 261-274.
3. Berzigotti A, et al., *Assessing portal hypertension in liver diseases*. Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol., 2013. 7(2): 141-155.
4. García-Pagán, J.C., et al., *Functional aspects on the pathophysiology of portal hypertension in cirrhosis*. Journal of Hepatology, 2012. 57: 458-461.
5. Gibson, P.R., et al., *Splenomegaly--an insensitive sign of portal hypertension*. Aust N Z J Med, 1990. 20(6): 771-774.
6. Berzigotti, A., et al., *Elastography, spleen size, and platelet count identify portal hypertension in patients with compensated cirrhosis*. Gastroenterology, 2013. 144(1): 102-111 e101.
7. Ginés, P., et al., *Compensated Cirrhosis: Natural History and Prognostic Factors*. Hepatology, 1987. 7(1): 122-128.

8. De Franchis, R. and Salerno, F., *Pathogenesis of ascites and predictors of resistance to therapy*. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2002. 17: 242-247.
9. Arroyo, V. and Colmenero, J., *Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis: pathophysiological basis of therapy and current management*. Journal of Hepatology, 2003. 38: 69-89.
10. Sauerbruch, T., et al., *The Conservative and Interventional Treatment of the Complications of Liver Cirrhosis*. Dtsch Arztebl Int, 2013. 110(8): 126-132.
11. Gerbes, A.L., et al., *German S3-Guideline "Ascites, spontaneous bacterial peritonitis, hepatorenal syndrome"*. Z Gastroenterol, 2011. 49(6): 749-779.
12. Rimola, A., et al., *Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document*. Journal of Hepatology, 2000. 32: 142-153.
13. Evans, L.T., et al., *Spontaneous bacterial peritonitis in asymptomatic outpatients with cirrhotic ascites*. Hepatology, 2003. 37: 897-901.
14. Bellot, P., et al., *Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications*. Liver Int., 2013. 33(1): 31-39.
15. Berg, R.D. and Garlington, A.W., *Translocation of Certain Indigenous Bacteria from the Gastrointestinal Tract to the Mesenteric Lymph Nodes and Other Organs in a Gnotobiotic Mouse Model*. Infect. Immun., 1979. 23(2): 403.
16. Ashkenazi, E., et al., *Evaluation and Treatment of Esophageal Varices in the Cirrhotic Patient*. Isr Med Assoc J., 2013. 15(2): 109-115.

17. Burroughs, A., *The natural history of varices*. J Hepatol., 1993. 17(2): 10-13.
18. Schwarzenberger, E., et al., *Utilization of Platelet Count Spleen Diameter Ratio in Predicting the Presence of Esophageal Varices in Patients With Cirrhosis*. J Clin Gastroenterol, 2010. 44: 146-150.
19. Chawla, S., et al., *Platelet count/spleen diameter ratio to predict the presence of esophageal varices in patients with cirrhosis: a systematic review*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2012. 24(4): 431-436.
20. Zambam de Mattos, A., et al., *Aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index (APRI) for the non-invasive prediction of esophageal varices*. Ann Hepatol, 2013. 12(5): 810-814.
21. Ginés, P., et al., *Pathogenesis of Ascites in Cirrhosis*. Seminars in Liver Disease, 1997. 17(3).
22. Caregaro, L., et al., *Renal water and sodium handling in compensated liver cirrhosis: mechanism of the impaired natriuresis after saline loading*. Eur J Clin Invest., 1985. 15(6): 360-364.
23. Gerbes, A.L., *Medical treatment of ascites in cirrhosis*. J Hepatol., 1993. 17(2): 4-9.
24. Ginés, P., et al., *Pharmacotherapy of ascites associated with cirrhosis*. Drugs, 1992. 43: 316-332.
25. Fernández-Rodríguez, C., et al., *Atrial natriuretic factor in cirrhosis: relationship to renal function and hemodynamic changes*. Journal of Hepatology, 1994. 21: 211-216.
26. DiBona, G. and Kopp, U., *Neural control of renal function*. Physiol Rev, 1997. 77: 75-197.

- 
27. DiBona, G. and Sawin, L., *Effect of renal nerve stimulation on NaCl and H<sub>2</sub>O transport in Henle's loop of the rat*. Am J Physiol., 1982. 243(6): 576-580.
  28. Ros, J., et al., *Role of Nitric Oxide and Prostacyclin in the Control of Renal Perfusion in Experimental Cirrhosis*. Hepatology, 1995. 22: 915-920.
  29. Bichet, D., et al., *Role of Vasopressin in Abnormal Water Excretion in Cirrhotic Patients*. Ann Intern Med., 1982. 96(4): 413-417.
  30. Arroyo, V., et al., *Definition and Diagnostic Criteria of Refractory Ascites and Hepatorenal Syndrome in Cirrhosis*. Hepatology, 1996. 23(1): 164-176.
  31. Arroyo, V., et al., *Pathophysiology of ascites and functional renal failure in cirrhosis*. J Hepatol., 1988. 6(2): 239-257.
  32. Diez, J., et al., *Tubular sodium handling in cirrhotic patients with ascites as analysed by the renal lithium clearance method*. Eur J Clin Invest. , 1990. 20(3): 266-271.
  33. Arroyo, V., et al., *Prognostic value of spontaneous hyponatremia in cirrhosis with ascites*. Am J Dig Dis., 1976. 21(3): 249-256.
  34. Alessandria, C., et al., *MELD score and clinical type predict prognosis in hepatorenal syndrome: relevance to liver transplantation*. Hepatology, 2005. 41(6): 1282-1289.
  35. Kim, H.J. and Lee, H.W., *Important predictor of mortality in patients with end-stage liver disease*. Clin Mol Hepatol, 2013. 19(2): 105-115.
  36. Child, C. and Turcotte, J., *Surgery and portal hypertension*. Major Probl Clin Surg., 1964. 1: 1-85.

- 
37. Pugh, R.N., et al., *Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices*. Br J Surg, 1973. 60(8): 646-649.
  38. D'Amico, G., et al., *Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies*. J Hepatol., 2006. 44(1): 217-231.
  39. Infante-Rivard, C., et al., *Clinical and statistical validity of conventional prognostic factors in predicting short-term survival among cirrhotics*. Hepatology. , 1987. 7(4): 660-664.
  40. Fede, G., et al., *Renal failure and cirrhosis: A systematic review of mortality and prognosis*. J Hepatol., 2012. 56(4): 810-818.
  41. Malinchoc, M., et al., *A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts*. Hepatology, 2000. 31(4): 864-871.
  42. Kamath, P.S., et al., *A model to predict survival in patients with end-stage liver disease*. Hepatology, 2001. 33(2): 464-470.
  43. Wiesner, R., et al., *Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers*. Gastroenterology, 2003. 124(1): 91-96.
  44. Chalasani, N., et al., *Model for end-stage liver disease (MELD) for predicting mortality in patients with acute variceal bleeding*. Hepatology., 2002. 35(5): 1282-1284.
  45. Said, A., et al., *Model for end stage liver disease score predicts mortality across a broad spectrum of liver disease*. J Hepatol, 2004. 40(6): 897-903.
  46. Yoo, H.Y., et al., *Relationship of the model for end-stage liver disease (MELD) scale to hepatic encephalopathy, as defined by electroencephalography and neuropsychometric testing, and ascites*. Am J Gastroenterol, 2003. 98(6): 1395-1399.

- 
47. Hassanein, T., et al., *MELD and SOFA Scores As a Predictor of Transplant Free Survival Time in Patients With End Stage Liver Disease Complicated By Intractable Hepatic Encephalopathy Grades 3 and 4*. Gastroenterology, 2005. 128: 705.
  48. Bleibel, W., et al., *Peripheral platelet count correlates with liver atrophy and predicts long-term mortality on the liver transplant waiting list*. Transpl Int, 2013. 26(4): 435-442.
  49. Guarner, C., et al., *Risk of a first community-acquired spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotics with low ascitic fluid protein levels*. Gastroenterology, 1999. 117(2): 414-419.
  50. Gana, J.C., et al., *A clinical prediction rule and platelet count predict esophageal varices in children*. Gastroenterology, 2011. 141(6): 2009-2016.
  51. Tafarel, J.R., et al., *Prediction of esophageal varices in hepatic cirrhosis by noninvasive markers*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2011. 23(9): 754-758.
  52. Giannini, E., et al., *Platelet count/spleen diameter ratio: proposal and validation of a non-invasive parameter to predict the presence of oesophageal varices in patients with liver cirrhosis*. Gut, 2003. 52(8): 1200-1205.
  53. Gonzalez-Ojeda, A., et al., *Platelet count/spleen diameter ratio to predict esophageal varices in Mexican patients with hepatic cirrhosis*. World J Gastroenterol, 2014. 20(8): 2079-2084.
  54. Ying, L., et al., *Performance of platelet count/spleen diameter ratio for diagnosis of esophageal varices in cirrhosis: a meta-analysis*. Dig Dis Sci, 2012. 57(6): 1672-1681.

- 
55. de Mattos, A.Z. and de Mattos, A.A., *Platelet count/spleen diameter ratio: is there sufficient evidence for its use?* Dig Dis Sci, 2012. 57(9): 2473; author reply 2473-2474.
  56. Wai, C.T., et al., *A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.* Hepatology, 2003. 38(2): 518-526.
  57. Ljubicić, N., et al., *New insight into the role of NT-proBNP in alcoholic liver cirrhosis as a noninvasive marker of esophageal varices.* Croat Med J, 2012. 53(4): 374-378.
  58. Yildiz, R., et al., *Brain natriuretic peptide and severity of disease in non-alcoholic cirrhotic patients.* J Gastroenterol Hepatol, 2005. 20(7): 1115-1120.
  59. Ingram, M. and Coopersmith, A., *Reticulated platelets following acute blood loss.* Br J Haematol., 1969. 17(3): 225-229.
  60. Briggs, C., *Quality counts: new parameters in blood cell counting.* Int J Lab Hematol., 2009. 31(2): 277-297.
  61. Kienast, J. and Schmitz, G., *Flow cytometric analysis of thiazole orange uptake by platelets: a diagnostic aid in the evaluation of thrombocytopenic disorders.* Blood, 1990. 75(1): 116-121.
  62. Chavda, N., et al., *Rapid flow cytometric quantitation of reticulated platelets in whole blood.* Platelets., 1996. 7(4): 189-194.
  63. De Vries, R., et al., *Radioisotopic labels for blood cell survival studies: a review.* Nucl Med Biol., 1993. 20(7): 809-817.
  64. Steinberg, M.H., et al., *Plasma glycolalcin. An aid in the classification of thrombocytopenic disorders.* N Engl J Med, 1987. 317(17): 1037-1042.

- 
65. Di Mario, A., et al., *Immature platelet fraction (IPF) in hospitalized patients with neutrophilia and suspected bacterial infection*. J Infect., 2009. 59(3): 201-206.
  66. De Blasi, R., et al., *Immature platelet fraction in predicting sepsis in critically ill patients*. Intensive Care Med. , 2013. 39(4): 636-643.
  67. Guthikonda, S., et al., *Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin*. J Thromb Haemost., 2007. 5(3): 490-496.
  68. Grove, E.L., et al., *Immature platelets in patients with acute coronary syndromes*. Thromb Haemost. , 2009. 101(1): 151-156.
  69. Cesari, F., et al., *Reticulated platelets predict cardiovascular death in acute coronary syndrome patients. Insights from the AMI-Florence 2 Study*. Thromb Haemost., 2013. 109(5): 846-853.
  70. Amitrano, L., et al., *Coagulation disorders in liver disease*. Semin Liver Dis, 2002. 22(1): 83-96.
  71. Qian, S., et al., *Primary role of the liver in thrombopoietin production shown by tissue-specific knockout*. Blood, 1998. 92(6): 2189-2191.
  72. Hayashi, H., et al., *Management of thrombocytopenia due to liver cirrhosis: a review*. World J Gastroenterol, 2014. 20(10): 2595-2605.
  73. Wendling, F., *Thrombopoietin: its role from early hematopoiesis to platelet production*. Haematologica, 1999. 84(2): 158-166.
  74. Kuter, D.J. and Rosenberg, R.D., *The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit*. Blood, 1995. 85(10): 2720-2730.

- 
75. Herklotz, R., et al., *Referenzbereiche in der Hämatologie*. Ther Umsch, 2006. 63(1): 5-24.
  76. Peck-Radosavljevic, M., et al., *Is inadequate thrombopoietin production a major cause of thrombocytopenia in cirrhosis of the liver?* J Hepatol, 1997. 27(1): 127-131.
  77. Nowatari, T., et al., *Role of platelets in chronic liver disease and acute liver injury*. Hepatol Res, 2014. 44(2): 165-172.
  78. Goulis, J., et al., *Thrombopoietin concentrations are low in patients with cirrhosis and thrombocytopenia and are restored after orthotopic liver transplantation*. Gut, 1999. 44(5): 754-758.
  79. Temel, T., et al., *Serum thrombopoietin levels and its relationship with thrombocytopenia in patients with cirrhosis*. Hepat Mon, 2014. 14(5): e18556.
  80. Schöffski, P., et al., *Thrombopoietin serum levels are elevated in patients with hepatitis B/C infection compared to other causes of chronic liver disease*. Liver, 2002. 22(2): 114-120.
  81. Tacke, F., et al., *Quantification of hepatic thrombopoietin mRNA transcripts in patients with chronic liver diseases shows maintained gene expression in different etiologies of liver cirrhosis*. Liver, 2002. 22(3): 205-212.
  82. Grozovsky, R., et al., *The Ashwell-Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling*. Nat Med, 2015. 21(1): 47-54.
  83. Bashour, F.N., et al., *Prevalence of peripheral blood cytopenias (hypersplenism) in patients with nonalcoholic chronic liver disease*. Am J Gastroenterol, 2000. 95(10): 2936-2939.

- 
84. Udell, J.A., et al., *Does this patient with liver disease have cirrhosis?* JAMA, 2012. 307(8): 832-842.
  85. Abe, Y., et al., *A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF)*. Thromb Res., 2006. 118(4): 463-469.
  86. Norfolk, D.R., et al., *Consensus Conference on Platelet Transfusion, Royal College of Physicians of Edinburgh, 27-28 November 1997. Synopsis of background papers*. Br J Haematol, 1998. 101(4): 609-617.
  87. Briggs, C., et al., *Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia*. Br J Haematol., 2004. 126(1): 93-99.
  88. Briggs, C., et al., *Immature platelet fraction measurement: a future guide to platelet transfusion requirement after haematopoietic stem cell transplantation*. Transfus Med., 2006. 16(2): 101-109.
  89. Sakaguchi, A., et al., *Analysis of platelet production following liver transplantation using the immature platelet fraction (IPF) parameter*. Rinsho Byori, 2008. 56(1): 29-35.
  90. Zucker, M.L., et al., *Immature platelet fraction as a predictor of platelet recovery following hematopoietic progenitor cell transplantation*. Lab Hematol, 2006. 12(3): 125-130.
  91. Mao, W., et al., *Immature platelet fraction values predict recovery of platelet counts following liver transplantation*. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2015.
  92. Yamaoka, G., et al., *The immature platelet fraction is a useful marker for predicting the timing of platelet recovery in patients with cancer after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation*. Int J Lab Hematol, 2010. 32(6p1): e208-e216.

- 
93. Lesurtel, M., et al., *Low platelet counts after liver transplantation predict early posttransplant survival: the 60-5 criterion*. Liver Transpl, 2014. 20(2): 147-155.
  94. Nomura, T., et al., *Immature platelet fraction measurement in patients with chronic liver disease: a convenient marker for evaluating cirrhotic change*. Int J Lab Hematol, 2010. 32(3): 299-306.
  95. Jung, H., et al., *Immature platelet fraction: establishment of a reference interval and diagnostic measure for thrombocytopenia*. Korean J Lab Med., 2010. 30(5): 451-459.
  96. KO, Y.J., et al., *Establishment of reference interval for immature platelet fraction*. Int J Lab Hematol, 2013. 35(5): 528-533.
  97. Paquet, K.J., *Prophylactic endoscopic sclerosing treatment of the esophageal wall in varices -- a prospective controlled randomized trial*. Endoscopy, 1982. 14(1): 4-5.
  98. Giannini, E.G., *Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options*. Aliment Pharmacol Ther, 2006. 23(8): 1055-1065.
  99. Afdhal, N., et al., *Thrombocytopenia associated with chronic liver disease*. J Hepatol, 2008. 48(6): 1000-1007.
  100. Aster, R.H., *Pooling of platelets in the spleen: role in the pathogenesis of "hypersplenic" thrombocytopenia*. J Clin Invest, 1966. 45(5): 645-657.
  101. Garcia-Suarez, J., et al., *HCV-associated thrombocytopenia: clinical characteristics and platelet response after recombinant alpha2b-interferon therapy*. Br J Haematol, 2000. 110(1): 98-103.

- 
102. Eyraud, D., et al., *Thrombocytopenia, splenomegaly, and portal blood flow in patients who have undergone liver transplantation for cirrhosis*. Liver Transpl, 2012. 18(3): 340-346.
  103. Kedia, S., et al., *Splenectomy in cirrhosis with hypersplenism: improvement in cytopenias, Child's status and institution of specific treatment for hepatitis C with success*. Ann Hepatol, 2012. 11(6): 921-929.
  104. Abdella, H.M., et al., *Role of partial splenic arterial embolization for hypersplenism in patients with liver cirrhosis and thrombocytopenia*. Indian J Gastroenterol, 2010. 29(2): 59-61.
  105. Zucker, M.L., et al., *Mechanism of thrombocytopenia in chronic hepatitis C as evaluated by the immature platelet fraction*. Int J Lab Hematol, 2012. 34(5): 525-532.
  106. Olariu, M., et al., *Thrombocytopenia in chronic hepatitis C*. J Gastrointestin Liver Dis, 2010. 19(4): 381-385.
  107. Weksler, B.B., *Review article: the pathophysiology of thrombocytopenia in hepatitis C virus infection and chronic liver disease*. Aliment Pharmacol Ther, 2007. 26 Suppl 1: 13-19.
  108. Ballard, H.S., *Hematological complications of alcoholism*. Alcohol Clin Exp Res, 1989. 13(5): 706-720.
  109. Ault, K.A., et al., *The significance of platelets with increased RNA content (reticulated platelets). A measure of the rate of thrombopoiesis*. Am J Clin Pathol, 1992. 98(6): 637-646.
  110. Kawasaki, T., et al., *Serum thrombopoietin levels in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis*. Am J Gastroenterol, 1999. 94(7): 1918-1922.
  111. Tana, M.M., et al., *Factors associated with the platelet count in patients with chronic hepatitis C*. Thromb Res, 2015. 135(5): 823-828.

- 
112. Kalambokis, G.N., et al., *Rifaximin improves thrombocytopenia in patients with alcoholic cirrhosis in association with reduction of endotoxaemia*. Liver Int, 2012. 32(3): 467-475.
  113. Vlachogiannakos, J., et al., *Intestinal decontamination improves liver haemodynamics in patients with alcohol-related decompensated cirrhosis*. Aliment Pharmacol Ther, 2009. 29(9): 992-999.
  114. Wiegand, J. and Berg, T., *The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis*. Dtsch Arztebl Int, 2013. 110(6): 85-91.
  115. Snyder, N., et al., *APRI: an easy and validated predictor of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C*. J Clin Gastroenterol, 2006. 40(6): 535-542.
  116. Saigo, K., et al., *Clinical utility of new parameters provided by XE-2100 RET channel*. Sysmex Journal International, 2007. 17: 81-94.
  117. Stein, S.F. and Harker, L.A., *Kinetic and functional studies of platelets, fibrinogen, and plasminogen in patients with hepatic cirrhosis*. J Lab Clin Med, 1982. 99(2): 217-230.
  118. Murali, A.R., et al., *Utility of Platelet Count for Predicting Cirrhosis in Alcoholic Liver Disease: Model for Identifying Cirrhosis in a US Population*. J Gen Intern Med, 2015.
  119. Naschitz, J.E., et al., *Heart diseases affecting the liver and liver diseases affecting the heart*. Am Heart J, 2000. 140(1): 111-120.
  120. Henriksen, J.H., et al., *Increased circulating pro-brain natriuretic peptide (proBNP) and brain natriuretic peptide (BNP) in patients with cirrhosis: relation to cardiovascular dysfunction and severity of disease*. Gut, 2003. 52(10): 1511-1517.

## 9. Publikationen

Appenrodt B, Rauber P, Grotemeyer K, Lammert F *Relevanz alter und neuer laborchemischer Parameter bei hospitalisierten Patienten mit Leberzirrhose und bakterieller Infektion. Z Gastroenterol 2014; 52 - P\_2\_23*

Appenrodt B, Grotemeyer K, Rauber P, Lammert F *Eine neue diagnostische Kombination für die zirrhotische Thrombozytopenie: Relation zwischen IPF, Thrombopoetin und Milzgröße. Z Gastroenterol 2014; 52 - KG142*

## **10. Dank**

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. Lammert dafür danken, dass er es mir ermöglicht hat in seiner Klinik für Innere Medizin zu promovieren.

Besonderer Dank gilt Frau PD. Dr. Beate Appenrodt, die mich über die Jahre bei der Erhebung der Daten und dem Verfassen dieser Arbeit, vor allem mit dem vielen Korrekturlesen, unterstützt hat.

Ich danke Frau Dr. K. Grotmeyer für die Durchführung des Thrombopoietin-ELISA und Herrn Diehl für die Aufbereitung und Lagerung der Blutproben.

Markus Mock möchte ich für die Hilfe beim Formatieren in Word danken.

Und meinen Eltern danke ich fürs Korrekturlesen.