

Fakultät für Medizin

Retrospektive und prospektive Beobachtungsstudie von Patienten mit Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten

Paraskevi Klothaki

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Jürgen Schlegel

Prüfende der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Michaela Nathrath
2. Prof. Dr. Stefan Burdach

Die Dissertation wurde am 27.03.2020 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 01.12.2020 angenommen.

| | |
|---|-----------|
| Abkürzungsverzeichnis | 4 |
| | |
| 1. Einleitung | 6 |
| 1.1. Struktur und biochemische Funktion der Pyruvatkinase..... | 6 |
| 1.2. PK-LR Gen..... | 7 |
| 1.3. Pathophysiologie..... | 8 |
| 1.4. Symptomatik und Komplikationen bei Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten..... | 10 |
| 1.5. Diagnostik und Einteilung des Schweregrades der Erkrankung..... | 12 |
| 1.6. Therapie..... | 14 |
| 2. Forschungsziele und Forschungsfrage der Dissertation | 17 |
| 3. Material und Methode | 19 |
| 3.1. Studiendesign..... | 19 |
| 3.2. Patienten..... | 19 |
| • 3.2.a. Allgemeine Informationen | |
| • 3.2.b. Ein- und Ausschlusskriterien | |
| • 3.2.c. Ethik | |
| • 3.2.d. Datenerhebung | |
| • 3.2.e. Auswertung, graphische Darstellung der Ergebnisse und Zitieren | |
| 4. Ergebnisse | 22 |
| 4.1. Alter der Patienten mit PK-Mangel bei Diagnosestellung und Geschlechterverteilung..... | 22 |
| 4.2. Gesundheitszustand und Lebensqualität der Patienten bei Studieneinschluss..... | 23 |
| • 4.2.1. Volljährige Patienten | |
| • 4.2.2. Minderjährige Patienten | |
| • 4.2.2.a. Lebensqualität | |
| 4.3. Ikterus neonatorum und Therapie..... | 29 |
| 4.4. LDH und indirektes Bilirubin..... | 30 |
| 4.5. Hämoglobinwerte vor Transfusion..... | 32 |
| 4.6. Transfusionspflichtigkeit und Transfusionshäufigkeit..... | 33 |
| 4.7. Eisenüberladung und Transfusionspflichtigkeit..... | 35 |
| 4.8. Lebereisenmessung und Herzeisenmessung..... | 37 |
| 4.9. Chelat-Therapie..... | 38 |

| | |
|--|------------|
| 4.10. Aktuelle Medikation bei Patienten mit PK-Mangel..... | 39 |
| 4.11. Splenektomie..... | 40 |
| 4.12. Indikationen für eine Splenektomie..... | 41 |
| 4.13. Therapeutisches Outcome nach Splenektomie..... | 41 |
| 4.14. Komplikationen nach Splenektomie..... | 42 |
| 4.15. Cholezystolithiasis..... | 42 |
| 4.16. Cholezystektomie..... | 43 |
| 4.17. Biochemische Diagnostik des PK-Mangels..... | 43 |
| 4.18. Molekulargenetische Befunde der Patienten..... | 45 |
| 4.19. Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp..... | 48 |
| 4.20. Schwangerschaft..... | 54 |
| 5. Diskussion..... | 55 |
| 6. Zusammenfassung..... | 79 |
| 7. Anhang..... | 81 |
| | |
| Literaturverzeichnis..... | 106 |
| Abbildungsverzeichnis..... | 111 |
| Tabellenverzeichnis..... | 113 |
| Danksagung..... | 115 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------|--|
| 1,3-DPG | 1,3-Biphosphoglycerat |
| 2-PG | 2-Phosphoglycerat |
| 2,3-DPG | 2,3-Biphosphoglycerat |
| F1,6P | Fruktose-1,6-Biphosphat |
| F6P | Fruktose-6-Phosphat |
| G3P | Glycerin-aldehyd-3-Phosphat |
| HbF | fetales Hämoglobin |
| Hkt | Hämatokrit |
| HRQL | Health Related Quality of Life |
| HS | hereditäre Sphärozytose |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| MCH | mean corpuscular hemoglobin (mittleres korpuskuläres Hämoglobin) |
| MCHC | mean corpuscular/cellular hemoglobin concentration (mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration) |
| NAD | Nikotinamidadenindinukleotid (oxidierte Form) |
| NADH | Nikotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form) |
| PedsQL | Pediatric Quality of Life Inventory |
| PEP | Phosphoenolpyruvat |
| PI | Primer Investigator |
| PK-Mangel | Pyruvatkinase-Mangel der Erythrozyten |
| PKLR-Gen | Pyruvatkinase Leber/ Rote Blutkörperchen Gen |
| PKM-Gen | Pyruvatkinase Muskel Gen |
| PK-R | Pyruvatkinase R-Isoform |
| SQUID | Supercontacting Quantum Interference |



STIKO

u.a.

VAS

z.B.

Device

ständige Impfkommission

und andere(s)

Visuelle Analogskala

zum Beispiel

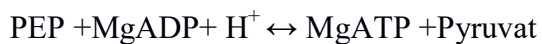
1. Einleitung

Der Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten (PK-Mangel) ist der häufigste Enzymdefekt der anaeroben Glykolyse der Erythrozyten, des sogenannten Emden-Meyerhof Wegs. Die Folge dieses Glykolysedefektes der Erythrozyten ist eine nicht autoimmun-vermittelte, nicht sphärozytäre hämolytische Anämie. Im PKLR-Gen, welches das glycolytische Enzym Pyruvatkinase kodiert, wurden seit der Erstbeschreibung der Erkrankung 1961 mehr als 300 Mutationen nachgewiesen (Grace et al. 2015; Grace et al. 2019).

Es handelt sich um eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung. Bei den Patienten werden molekulargenetisch Mutationen mit homozygoten oder compound heterozygoten Status im PKLR-Gen nachgewiesen.

1.1 Struktur und biochemische Funktion der Pyruvatkinase

Die Pyruvatkinase katalysiert die letzte irreversible Reaktion der Glykolyse der Erythrozyten. Durch die Katalyse wird eine Phosphatgruppe vom PEP auf ADP übertragen, so dass Pyruvat und ATP entstehen. Die Pyruvatkinase ist damit zuständig für die Produktion von mehr als 50% des durch die Glykolyse entstehenden ATPs der Erythrozyten.



Für seine Funktion braucht das Enzym Kationen wie Mn^{2+} , Mg^{2+} und K^+ .

Die Pyruvatkinase hat in Säugetieren 4 verschiedene Isoformen:

- L-Form (Leber, Niere, Dünndarm)
- R-Form (Erythrozyten)
- M1-Form (Muskel, Herz, Gehirn)
- M2-Form (fetales Gewebe)

Jede Isoform der Pyruvatkinase ist wie oben beschrieben gewebespezifisch und hat ein eigenes kinetisches Muster, was den metabolischen Bedarf des jeweiligen Gewebes abdeckt. Beim Menschen werden die 4 Isoformen von 2 verschiedenen Genen kodiert (Zanella et al. 2005). Die kodierenden Gene sind PKM und PKLR (Zanella et al. 2005).

Das PKLR-Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q21) und kodiert sowohl die L- als auch die R-Isoform des Enzyms. Für jede Isoform wird ein anderer gewebespezifischer Promoter benutzt (Zanella et al. 2005).

Das PKM-Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 15 (15q22) und kodiert die M1- und M2 Isoformen durch die Methode des alternativen mRNA Spleißens. Die M2 Isoform ist im fetalen schnell proliferierenden Gewebe die Hauptenzymform und wird dann

im Laufe der Zeit von anderen gewebespezifischen Isoformen substituiert. Die M2 Isoform ist die Hauptform in Niere, Milz, Lunge, Fettgewebe, sowie Leuko- und Thrombozyten (Zanella et al. 2005).

Die Kristallform der humanen PK-R wurde im Jahr 2002 beschrieben (Valentini et al. 2002). Die Pyruvatkinase der humanen Erythrozyten (R-Isoform) ist ein 200 kDa Tetramer, das aus 4 gleichen Untereinheiten besteht. Jede Untereinheit besteht aus 4 Domänen, den Domänen A, B, C und einer kleinen N-terminalen Domäne.

Die A-, C- und die kleine N-terminale Domäne sind die Hauptteile von den 4 PK-R Untereinheiten. Die B-Domäne ist mit dem Rest vom Molekül verbunden. Die Interaktion zwischen den 4 Untereinheiten erfolgt über zwei große Kontaktflächen, eine A/A' und eine C/C' Interaktion.

Die PK-R ist ein allosterisches Enzym und besteht aus Proteinuntereinheiten, die neben dem aktiven Zentrum auch allosterische Zentren enthalten. Durch die Bindung eines Effektors im allosterischen Zentrum wird die Konformation des aktiven Zentrums so verändert, dass die Substratbindung oder die Katalysegeschwindigkeit positiv oder negativ beeinflusst wird.

Das Enzym hat die Möglichkeit zwischen zwei verschiedenen Formen zu wechseln, zwischen der Form der niedrigen Affinität (tight form-T) und der Form der hohen Affinität (relaxed form-R).

1.2. PKLR Gen

Das PKLR Gen befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms 1 (1q21-q22). Die cDNA besteht aus 2060 Nukleotiden und kodiert für ein Protein mit 574 Aminosäuren. Der kodierende Anteil hat 12 Exone. Es wurden bis jetzt mehr als 300 Mutationen des PKLR Gens beim PK-Mangel beschrieben (Grace et al. 2015; Grace et al. 2019). Die Allelfrequenz in der Allgemeinbevölkerung wird bei ca 2% geschätzt.

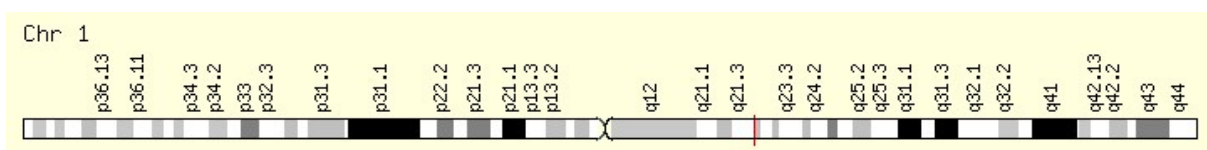


Abbildung 1: Genlocus des PKLR Gens auf dem Chromosom 1 (www.genecards.org)

Der Erbgang des Pyruvatkinasemangels ist autosomal rezessiv. Die Inzidenz der Erkrankung ist höher in sogenannten geschlossenen Populationen wie beispielsweise in der Population der Amischen in Pennsylvania (USA). Die meisten Patienten dieser Population weisen homozygote Mutationen auf.

Es gibt auch Patienten, die compound heterozygot für 2 verschiedene Mutationen in den 2 Allelen der PKLR-Gens sind. Das bedeutet, dass 2 unterschiedlich mutierte Allele vom Vater und von der Mutter übertragen wurden.

Die Mutationen des PKLR-Gens, die am häufigsten einen PK-Mangel verursachen, sind:

- Missense Mutationen: Sie sind die häufigsten Mutationen beim Pyruvatkinasemangel und sind Punktmutationen, die den Einbau einer anderen Aminosäure in das Protein verursachen. Die Art der Missense Mutation korreliert häufig mit der ethnischen Herkunft des Patienten. 1529 G>A Mutationen sind am häufigsten bei Patienten in den USA und Europa zu finden, 1456 C>T Mutationen in Südeuropa und 1468 C>T Mutationen in Asien. Bei den Amischen ist ein homozygoter Status für die 1436 G>A Mutation am häufigsten (Zanella et al. 2005; Zanella et al. 2007).
- Spleißmutationen: Mutationen, die die Sequenzen der Intron-Exon Übergänge so stark verändern, dass das korrekte Verknüpfen der Exone bzw. das Entfernen der Introne aus dem primären mRNA-Transkript nicht mehr funktioniert.
- Non Sense Mutationen: Punktmutationen, die zu einem Stop Codon führen
- Deletionen und Insertionen: Es handelt sich um Deletionen oder Insertionen von Basenpaaren. Hier ist es von Bedeutung, ob die Anzahl der fehlenden oder zusätzlichen Basenpaare ein Vielfaches der Zahl 3 ist. Ist es nicht der Fall, kommt es zu sogenannten Frameshift-Mutationen, bei denen sich das gesamte Leseraster verschiebt und die Struktur der Pyruvatkinase dadurch verändert wird.

Häufig kommt es auch zu einem vorzeitigen Abbruch der Proteinsequenz. Wenn dagegen die Anzahl der fehlenden Basenpaare ein Vielfaches von 3 ist, kommt es zu einer entsprechenden Deletion oder Insertion von Aminosäuren auf der Proteinebene und zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz.

1.3 Pathophysiologie

Die normale anaerobe Glykolyse der Erythrozyten wird in der Abbildung 2 präsentiert. Erythrozyten mit PK-Mangel weisen eine verminderte ATP Produktion und einen erhöhten Anteil von 2,3 DPG auf.

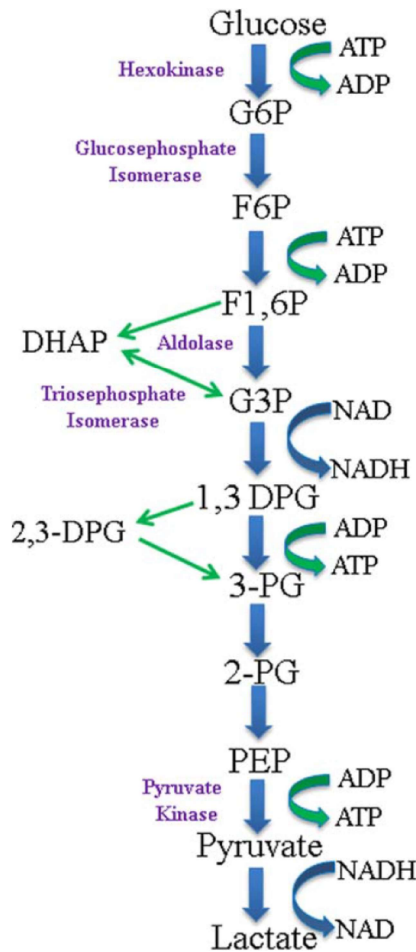


Abbildung 2: Anaerobe Glykolyse des Emden-Meyerhof Wegs

Der ATP Mangel führt in den Erythrozyten zu Kalium und Wasser Verlusten (Zanella et al. 2005). Dies führt zur Dehydratation der Erythrozyten, erhöhter Fragilität und verkürzter Lebenszeit. Das Austreten von Wasser und Kalium aus den Erythrozyten der Patienten mit PK-Mangel erhöht die intrazelluläre Viskosität, die Membrandensität und die Steifheit der Erythrozyten. Die Steifheit der pyruvatkinasedepletierten Erythrozyten fördert deren Zerstörung von den Makrophagen.

Die dehydrierten und starren Erythrozyten werden dann im retikuloendothelialen System und in der Milz abgebaut (Zanella und Bianchi 2000). Dadurch kommt es zu einer hämolytischen Anämie. Ist diese ausgeprägt, folgen konsekutiv Azidose und Hypoxie, was zusätzlich die Glykolyse verhindert.

Andererseits, wurden auch Polymorphismen der Pyruvatkinase beschrieben, die zu einem normalen oder erhöhten ATP Anteil führen. Bei Patienten, die solche Polymorphismen aufweisen, kommt es trotz normalen ATP Spiegel zu einer Hämolyse. Eine Deregulierung von anderen intermediären Metaboliten spielt dabei wohl eine Rolle. Bekannt ist zudem, dass pyruvatkinasedepletierte Zellen auch eine Reduktion der Konzentration von NAD⁺ und ADP zeigen. Dies verhindert die Glykolyse zusätzlich und trägt zu einer verstärkten Hämolyse bei (Zanella et al. 2005).

Eine weitere Rolle bei der Entstehung der Hämolyse spielen die erhöhten Werte von 2,3-DPG. 2,3-DPG inhibiert das Enzym Hexokinase der Glykolyse (Rijksen und Staal 1977). Zudem ist 2,3-DPG ein Inhibitor der Enzyme G-6-PD und 6-Phosphoglyconat-Dehydrogenase (Zanella et al. 2005). Diese Enzyme haben eine Kernfunktion im Pentosephosphat-Zyklus, der für die Produktion von NADPH in den Erythrozyten zuständig ist. NADPH Mangel führt besonders bei oxidativem Stress zur Hämolyse, da oxidiertes Glutathion nicht mehr abgebaut werden kann. Dies führt ebenfalls zu einer Verstärkung der Hämolyse bei Patienten mit PK-Mangel während einer Infektion (Zanella und Bianchi 2000).

Erythrozyten der Patienten mit PK-Mangel haben zusätzlich eine höhere Dichte als Erythrozyten gesunder Probanden und werden nach in vitro Inkubation bei 37° früher zerstört (Zanella et al. 2005). In Versuchen mit Mäusen zeigte sich, dass Erythrozyten von Mäusen mit PK-Mangel im Vergleich zu Erythrozyten gesunder Mäuse auf die Wirkung von zytotoxischen Makrophagen vulnerabler sind. In vivo werden von Makrophagen vor allem die Retikulozyten der Patienten mit PK-Mangel erkannt und zerstört. Diese werden schneller in der Milz abgebaut als die älteren Erythrozyten von Patienten mit PK-Mangel.

1.4 Symptomatik und Komplikationen bei Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten

Symptome bei Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten betreffen vor allem das hämatologische System. Interessant ist, dass es nicht zu Leberfunktionsstörungen kommt, obwohl die Pyruvatkinase auch im Lebergewebe defekt ist, da durch ein Isoenzym in der Leber dieser Mangel kompensiert wird.

Die klinische Heterogenität der Erkrankung ist groß. Bei der Mehrzahl der Patienten besteht eine chronische, nicht autoimmun vermittelte hämolytische Anämie. Der Schweregrad der Anämie kann variieren und reicht von einer sehr milden kompensierten chronischen Hämolyse bis hin zu einer schweren lebensbedrohlichen neonatalen Hämolyse mit Ikterus und Notwendigkeit von Austauschtransfusionen (Grace et al. 2015). Viele Patienten sind lebenslang transfusionspflichtig, andere benötigen Transfusionen nur in akuten Situationen wie Schwangerschaft oder Infektionen. Interessanterweise gibt es auch Patienten mit einem homozygoten PK-Mangel, die nicht transfusionspflichtig sind. Diese Patienten stellen jedoch Ausnahme dar.

Viele Patienten mit PK-Mangel haben eine Splenomegalie. Die Splenektomie ist heute immer noch eine der effektivsten Therapiemaßnahmen bei diesen Patienten mit dem Ziel, die Anämie zu lindern und die Transfusionsfrequenz zu senken (Grace et al. 2015). Eine sekundäre Komplikation nach Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel ist eine Sepsis durch bekapselte Bakterien wie Pneumokokken, Meningokokken und *Hämophilus influenzae*. Diese Patienten werden präoperativ gegen *Hämophilus influenzae* Typ b, Pneumokokken und Meningokokken geimpft. Zudem erhalten alle Patienten eine Penicillinprophylaxe. Die Dauer der Penicillinprophylaxe nach Splenektomie ist noch unklar. Während viele Patienten eine Prophylaxe für 1-2 Jahre nach Splenektomie erhalten, gibt es Fälle von Patienten bei denen eine lebenslange Prophylaxe in Erwägung gezogen wird. Letztere sind vor allem Patienten,

die weit von einem Krankenhaus wohnen. Splenektomierte Patienten haben auch ein erhöhtes Thromboserisiko.

Aufgrund der chronischen Hämolyse entwickeln viele Patienten Gallensteine in jüngerem Alter als gesunde Menschen und bei vielen ist eine Cholezystektomie notwendig (Climent et al. 2009; Abdel Fattah et al. 2010).

Interessanterweise können Patienten mit PK-Mangel niedrige Hämoglobinkonzentrationen deutlich besser tolerieren als Patienten mit chronischer Anämie anderer Genese. Die erhöhte Konzentration von 2,3-DPG bei Patienten mit PK-Mangel führt zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve des Hämoglobins. Das bedeutet, dass bei gleichem Sauerstoffpartialdruck (PaO₂) Sauerstoff im peripheren Gewebe leichter abgegeben wird. Die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins ist bei Patienten mit PK-Mangel niedriger, so dass sie Sport oder Situationen mit erhöhtem Sauerstoffbedarf besser tolerieren als Patienten mit einem vergleichsweise ähnlich niedrigem Hämoglobinwert anderer Genese (Zanella et al. 2005).

Die häufigste Komplikation bei Patienten mit PK-Mangel ist die Eisenüberladung (Mojzikova et al. 2014; Grace et al. 2015).

Das Ausmaß der Eisenüberladung kann indirekt durch Ferritin und Transferrinsättigung im Serum bestimmt werden. Es handelt sich um indirekte Messungen, weil sie nicht direkt den Eisengehalt im Gewebe widerspiegeln. Das Serumferritin ist als Akut-Phase-Protein unspezifisch und kann auch im Rahmen einer Infektion steigen, ohne dass eine relevante Eisenüberladung besteht. Trotzdem ist es ein guter Verlaufsparemeter, um die Wirksamkeit einer Chelattherapie zu beurteilen, wenn repetitive Messungen durchgeführt werden (Cario et al. 2015)

Der Eisengehalt kann auch mit nicht invasiven Methoden in der Leber und am Herzen gemessen werden. FerriScan ist eine nicht invasive quantitative Lebereisenmessung mittels Magnetresonanztomographie (MRT). Dies ist ein Verfahren, das in der EU zugelassen ist und auf einer von Pierre et al. erarbeiteten Methode standardisiert wurde (Cario et al. 2015). Die Basis dieser Methode ist die Bestimmung der Lebereisenkonzentration aus frischem Lebergewebe. Eine Chelat-Therapie soll ab einem Lebereisengehalt von $4,5 \pm 0,8 \text{ mg/g}_{d.w}$ eingeleitet werden. Ab einem Wert von $20,1 \pm 3,6 \text{ mg/g}_{d.w}$ ist das Risiko für eine schwere Organsiderose erhöht (Cario et al. 2015).

Eine andere Möglichkeit ist eine Lebereisenbestimmung mittels der MRT T2* Methode. Auf der Basis dieser Methode soll eine Chelat-Therapie ab einem Lebereisengehalt von $3,3 \text{ mg/g}_{d.w}$ eingeleitet werden. Ab einem Wert von $15 \text{ mg/g}_{d.w}$ ist das Risiko für eine schwere Organsiderose erhöht (Cario et al. 2015).

Zudem gibt es die Möglichkeit, eine Lebereisenmessung mittels SQUID Biomagnetometer direkt und nicht invasiv durchzuführen. Der Normwert für den Eisengehalt mittels dieser Methode liegt bei $0,1-0,5 \text{ mg Eisen/g Frischgewicht}$. Auf der Basis dieser Methode soll eine

Chelat-Therapie ab einem Lebereisengehalt von 1 mg/g_{liver} eingeleitet werden. Ab einem Wert von 4,5 mg/g_{liver} ist das Risiko für eine schwere Organsiderose erhöht (Cario et al. 2015).

Mittels T2* MRI kann auch der Eisengehalt im Herzen bestimmt werden (Grace et al. 2015). Als pathologisch gilt eine Relaxationszeit ≤ 20 msec im T2* MRT (van Beers et al. 2018). Der richtige Zeitpunkt einer quantitativen Eisenmessung bei Patienten mit PK-Mangel ist noch unklar. Am häufigsten wird analog zu den Patienten mit Sichelzellanämie oder Thalassämie nach 10-20 Transfusionen eine Lebereisenmessung durchgeführt.

Die Eisenüberladung betrifft sowohl transfusionspflichtige als auch transfusionsunabhängige Patienten mit PK-Mangel (Grace et al. 2015). Bei den transfusionsunabhängigen Patienten spielen diverse Faktoren, die eine Eisenüberladung hervorrufen, eine entscheidende Rolle. Diese sind ineffektive Erythropoese, Splenektomie und die Koexistenz von Mutationen für die kongenitale Hämochromatose.

Sehr selten beschriebene Komplikationen eines PK-Mangels sind extramedulläre Hämatopoese mit Rückenmarkskompression, Beinulzera, Kernikterus und akute Pankreatitis bei Patienten mit Gallensteinen.

1.5 Diagnostik und Einteilung des Schweregrades der Erkrankung

Ein typischer Laborbefund bei PK-Mangel ist die hämolytische, nicht sphärozytäre Anämie mit einer breiten Variabilität des Hämoglobinwerts. Der Hb kann bei manchen Patienten niedrig normal sein, während andere Patienten eine ausgeprägte Anämie mit sehr niedrigen Werten aufweisen (Zanella und Bianchi 2000; Zanella et al. 2005; Zanella et al. 2007; Grace et al. 2015). Da es sich um eine hämolytische Anämie handelt, fallen erhöhte LDH Werte und ein erhöhtes indirektes Bilirubin auf. Der direkte Coombs-Test ist bei Patienten mit PK-Mangel negativ als Zeichen einer nicht immunvermittelten Hämolyse. Kompensatorisch ist die Retikulozytenzahl erhöht und bleibt es auch nach erfolgter Splenektomie, da die Retikulozyten normalerweise in der Milz abgebaut werden.

Die Erythrozytenmorphologie kann in vielen Fällen normal sein. Allerdings sind bei vielen Patienten im Ausstrich typische Echinozyten (3-30%) nachweisbar. Echinozyten im Blutausstrich eines Patienten nach Splenektomie können ein Hinweis für PK-Mangel sein (Zanella et al. 2005). Es handelt sich um Erythrozyten, die ihre diskusähnliche Form verloren haben und mit 10-30 relativ gleichmäßigen, stumpfen, kurzen Fortsätzen besetzt sind (Rider et al. 2011).

Die osmotische Resistenz der Erythrozyten kann bei PK-Mangel normal (60%) oder reduziert sein (40%) (Zanella et al. 2005). Meistens ist dieser Test nicht wegweisend für die Diagnose des PK-Mangels.

Die Diagnose des PK-Mangels erfolgt durch die biochemische Bestimmung der Restenzymaktivität der Pyruvatkinase. Die meisten homozygoten oder compound heterozygoten Patienten haben eine Restenzymaktivität von 5-40%. Es gibt Patienten, die eine

normale oder leicht erniedrigte Restenzymaktivität aufweisen und trotzdem einen Pyruvatkinasemangel haben (Zanella et al. 2005; Titapiwatanakun et al. 2008; Grace et al. 2015). Die Restenzymaktivität kann bei Patienten nach erfolgter Bluttransfusion normal sein, wobei dann typischerweise die Pyruvatkinase normal oder grenzwertig niedrig ist, während die anderen Enzyme der Erythrozyten in Relation dann erhöht sind (Titapiwatanakun et al. 2008; Grace et al. 2015). Insofern besteht ein relativer PK-Mangel, wenn man auf die Restenzymaktivität der anderen Erythrozytenenzyme in die Bewertung mit einbezieht. Die Restenzymaktivität der Pyruvatkinase kann ebenso falsch normal sein bei Patienten mit einer hohen Retikulozytenzahl, wenn die Leukozyten inkomplett entfernt worden sind oder bei Persistenz der Expression der M2 Isoform der Pyruvatkinase in den reifen Erythrozyten (Zanella et al. 2005; Grace et al. 2015).

Die molekulare Diagnostik des Pyruvatkinasemangels hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Sie ist bei Patienten indiziert, bei denen der klinische Verdacht eines PK-Mangels besteht und die Restenzymaktivität der Pyruvatkinase normal beziehungsweise im unteren Normbereich liegt bei gleichzeitig erhöhter Restenzymaktivität anderer Erythrozytenenzyme (Grace et al. 2015). Indiziert ist sie auch bei Patienten, die sehr oft transfundiert werden müssen aufgrund einer chronischen hämolytischen Anämie unklarer Genese. Bei diesen Patienten kann die Restenzymaktivität der Pyruvatkinase transfusionsbedingt falsch normwertig sein (Grace et al. 2015).

Zanella et al. 2005 haben anhand der Laborparameter, des Alters, in dem die Patienten symptomatisch werden, und der Transfusionspflichtigkeit drei Schweregrade der Erkrankung definiert. Diese Einteilung wurde von Grace et al. 2015 aktualisiert (siehe Tabelle 1). Die Erkrankung wird in eine milde, moderate und schwere Form eingeteilt.

Tabelle 1: Einteilung des Schweregrades des PK-Mangels nach Zanella et al aktualisiert von Grace et al. 2015

| | Milder PK-Mangel | Moderater PK-Mangel | Schwerer PK-Mangel |
|---|---|---|--|
| Neugeborenenikterus | 30-50% der Patienten, selten Austauschtransfusion nötig | 30-50% der Patienten, selten Austauschtransfusion nötig | 90% der Patienten, Austauschtransfusion meistens nötig |
| Alter bei Diagnose | Kindes-bis Erwachsenenalter | Kindes-bis Erwachsenenalter | Neugeborenen-oder Säuglingsalter |
| Anzahl der Transfusionen | Selten, nur in Risikosituationen | Häufig, aber nur in Risikosituationen | Transfusionspflichtig vor Splenektomie |
| Durchschnittlicher Hb- vor Splenektomie | 11 g/dl | 9 g/dl | 6,8 g/dl |
| -nach Splenektomie | Selten Splenektomie | 10 g/dl | 8,4 g/dl |
| Komplikationen | Selten | Selten | Eisenüberladung |
| Häufiger molekulargenetischer Befund | 1456 T homozygot oder compound heterozygot | 1529A homozygot oder compound heterozygot | Stop Codon, Frameshift, Spleißmutation, große Deletion |

1.6 Therapie

Die therapeutischen Maßnahmen bei PK-Mangel sind bis heute nur symptomatisch. In der Neugeborenenperiode benötigen Patienten mit schwerem neonatalen Ikterus Phototherapie und nicht selten Austauschtransfusionen. Viele Patienten werden lebenslang nach einem festen Schema transfundiert, andere sind nur bei Infektionen oder im Rahmen von Operationen transfusionspflichtig.

Eine Splenektomie wird bei vielen Patienten mit PK-Mangel, die regelmäßig transfundiert werden müssen, durchgeführt. Nach der Splenektomie steigt der durchschnittliche Hämoglobinwert der Patienten um 1-3 g/dl und der Abstand zwischen den Transfusionen verlängert sich. Viele Patienten benötigen nach Splenektomie keine Transfusionen mehr oder müssen nur im Rahmen von akuten Stresssituationen (Infektion, Schwangerschaft, Operation) transfundiert werden.

Der richtige Zeitpunkt für eine Splenektomie wird kontrovers diskutiert (Grace et al. 2015). Die Gefahr einer Sepsis aufgrund der iatrogenen Immundefizienz macht diese Therapiemöglichkeit im Säuglings- und Kleinkindesalter besonders riskant (Grace et al. 2015; Samannodi et al. 2016). Zudem ist das Risiko einer Thrombose mit konsekutiver

Lungenembolie nach Splenektomie erhöht (Chou und DeLoughery 2001; Grace et al. 2015). In den meisten Fällen wurde eine totale gegenüber einer partiellen Splenektomie bevorzugt (Grace et al. 2015).

Durch die ineffektive Erythropoese, kommt es bei vielen transfusionsunabhängigen Patienten mit PK-Mangel zu einer Eisenüberladung, so dass eine Chelat-Therapie notwendig ist. Eine Chelat-Therapie sollte bei einem Ferritinwert >1000 ng/ml, bei einer Lebereisenkonzentration > 3 mg/g Trockengewicht und/oder eines mittels T2* MRTI Herz bestimmtes Eisens <20 ms begonnen werden. Eine Lebereisenmessung mittels MRT muss bei allen Patienten mit einem Ferritinwert > 500 ng/ml erfolgen (Grace et al. 2015). Die Medikamente, die für eine Chelat-Therapie zur Verfügung stehen, sind Deferipron, Deferasirox und Desferoxamine.

Die allogene Knochenmarktransplantation kann eine kurative Therapie sein. In der Literatur wurde ein Fall eines 5-jährigen transfusionspflichtigen Jungen mit PK-Mangel beschrieben, dessen gesunde Schwester die Spenderin für die allogene Knochenmarktransplantation war. Drei Jahre nach Transplantation ist es nicht zu einer Abstoßungsreaktion gekommen und der Junge hatte eine normale Pyruvatkinaseaktivität (Tanphaichitr et al. 2000). Van Straaten et al. 2018 haben die Daten von 16 Patienten mit PK-Mangel analysiert, bei denen eine allogene Stammzelltransplantation durchgeführt wurde. 31% sind nach der Transplantation verstorben und 44% zeigten GvHD Grad 3-4. Das 3jährige Überleben betrug 65%, wobei 90% der Patienten jünger als 10 Jahren überlebten versus nur 33% der Patienten älter als 10 Jahre (van Straaten et al. 2018). Diese Ergebnisse zeigen, dass die allogene Stammzelltransplantation noch keine etablierte Therapiemöglichkeit bei den Patienten mit PK-Mangel ist, so dass sie in aktuellen Publikationen nicht empfohlen werden kann (Grace et al. 2019).

Eine Therapie mittels Gentherapie wurde bei Menschen noch nicht in der Literatur beschrieben, allerdings gibt es gentherapeutische Experimente bei Mäusen mit relativ guten Ergebnissen (Garcia-Gomez et al. 2016).

Im Jahr 2016 wurde von der Pharmafirma Agios Pharmaceuticals in den USA eine randomisierte, open label, klinische Phase II Studie mit dem Medikament AG-348 bei 25 Erwachsenen nicht transfusionspflichtigen Patienten mit Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten begonnen (Grace et al. 2016).

Die Transfusionsunabhängigkeit wurde folgendermaßen definiert: maximal 3 Erythrozytenkonserven in den letzten 12 Monaten und keine Transfusion in den letzten 4 Monaten vor Beginn des Medikaments AG-348.

AG-348 ist ein allosterischer Aktivator der Pyruvatkinase. Das Medikament bindet sich an die Dimer-Dimer Interaktionsstelle der Kristallform der PK-R. Hierbei handelt sich um die 2 Kontaktflächen der Untereinheiten der PK-R, die sich weit weg vom aktiven Zentrum und dementsprechend von den häufigsten Mutationsstellen des Proteins, befinden. AG-348 aktiviert in vitro sowohl den Wildtyp der PK-R, als auch manche mutierte Formen der PK-R.

In der Studie wurde das Medikament in zwei verschiedenen Dosierungen nach Randomisierung der Patienten oral verabreicht. Die eine Hälfte der Patienten hat eine Dosierung von 50 mg einmal täglich und die andere Hälfte 300 mg einmal täglich eingenommen. Die Patienten wurden über mindestens 3 Wochen behandelt. Ein Patient musste im Verlauf von der Studie ausgeschlossen werden, da es zu einer Verschlechterung der Anämie gekommen war. 52 % (13 von 25) der Patienten hatten einen Hb Anstieg $>1,0$ g/dl. Alle Patienten mit einem Hb Anstieg hatten molekulargenetisch mindestens eine Missense Mutation. 24% (6 von 25) der Patienten in dieser Studie hatten 2 Non-Missense Mutationen. Von diesen Patienten zeigte keiner unter der Therapie einen Hb Anstieg $> 1,0$ g/dl.

AG-348 wirkt auch als Aromatase Inhibitor, so dass es unter der Medikation zu einem Anstieg des Testosteronspiegels und zu einem Abfall des Estron- und Östradiolspiegels kommen kann (Grace et al. 2016). Aus diesem Grund wurde ein zweiter selektiver Aktivator der Pyruvatkinase entwickelt (AG-519). Es handelt sich um ein orales Medikament, das ex vivo bei Erythrozyten von Patienten mit PK-Mangel zu einem Anstieg von ATP und zur 2,3-DPG Reduktion führt (Le et al. 2016). In einer randomisierten, Phase I Doppelblindstudie wurden die Sicherheit, die pharmakokinetischen- und pharmakodynamischen Eigenschaften des Medikaments AG-519 bei 32 gesunden Erwachsenen untersucht (Barbier et al. 2016). Eine unerwünschte Wirkung von AG- 519 als Aromatase Inhibitor konnte ausgeschlossen werden. Es wurden die Wirkungen des Medikaments bei 4 verschiedenen Dosierungen untersucht: 25 mg zweimal täglich, 125 mg zweimal täglich, 300 mg zweimal täglich und 375 mg zweimal täglich. Es kam bei allen Patienten zu einem dosisabhängigen Anstieg des ATP Spiegels und Abfall des 2-3-DPG Spiegels. Dies sei ein indirekter Hinweis für eine erhöhte Aktivität der PK-R, so die Autoren. Da ein Patient der Studie mit AG-519 eine cholestatische Hepatitis entwickelte, wurden die Produktion des Medikaments sowie die klinischen Studien im Dezember 2016 beendet. Ergebnisse von Phase III Studien für die oralen Medikamente bei Patienten mit PK-Mangel sind abzuwarten.

2.Forschungsfrage und Forschungsziele der Dissertation

Der PK-Mangel ist eine Krankheit, die mit einer Prävalenz von 51 zu 1.000.000 zu den seltenen Krankheiten gehört. Selbst spezialisierte Ambulanzen für pädiatrische Hämatologie haben selten Patienten mit PK-Mangel in Betreuung. In Deutschland gibt es keine Register für Patienten mit PK-Mangel und die genaue Prävalenz der Erkrankung im deutschsprachigen Raum ist nicht bekannt.

Über den klinischen Verlauf der Erkrankung und die Lebensqualität der Patienten ist immer noch wenig bekannt und ebenso wenig wie Therapiemaßnahmen, wie z.B Splenektomie und Transfusionen den klinischen Verlauf von Patienten mit PK-Mangel beeinflussen.

Mit dieser Arbeit wurden im Rahmen der Pyruvatkinase Natural History Study die Lebensqualität und der Gesundheitszustand von in Deutschland lebenden Patienten mit PK-Mangel über 2 Jahre prospektiv mittels standardisierten Fragebögen erfasst. Klinische und laborchemische Daten der Patienten wurden retrospektiv und prospektiv für einen Zeitraum von mindestens 2 Jahren gesammelt. Ziel war es, Aufschluss über mehrere definierte Bereiche zu erlangen, die Lebensqualität und Gesundheitszustand der Patienten betreffen wie Beweglichkeit, alltägliche Tätigkeiten, seelische Gesundheit, Sozialleben, Familienleben und Sexualleben.

Es gibt keine Publikationen, die die Lebensqualität von minderjährigen Patienten mit PK-Mangel erfassen. Der erste Artikel zu der Lebensqualität von erwachsenen Patienten mit PK-Mangel wurde im Jahr 2018 publiziert (Grace et al.2018b), so dass in der internationalen Literatur wenig Information zu dem Thema vorhanden ist. Die Hypothese ist, dass Patienten mit PK-Mangel, die chronisch transfusionspflichtig sind, eine schlechtere Lebensqualität im Vergleich zu nicht betroffenen Menschen aufweisen. Theoretisch sollten diese Patienten eine ähnliche Lebensqualität wie die Patienten mit β Thalassämia major haben, eine Hämoglobinopathie, die ebenfalls mit der Notwendigkeit einer regelmäßigen Transfusionspflichtigkeit vergesellschaftet ist. Es ist interessant zu wissen, ob sich diese Hypothese durch die Daten dieser Arbeit bestätigen lässt.

Zusätzliches Ziel dieser Arbeit war es, ein Bild über die klinischen, laborchemischen und molekulargenetischen Eigenschaften der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland zu erhalten. Eine vergleichbare Studie gab es bisher nicht und die Daten dieser Arbeit sollen dazu dienen, dass der klinisch tätige Hämato-Onkologe einen Überblick über die häufigsten klinischen und molekulargenetischen Eigenschaften dieser Erkrankung bekommt.

Untersucht wurde auch, ob es Korrelationen zwischen Genotyp und Restenzymaktivität und Phänotyp gibt. Die Hypothese ist, dass Patienten mit einer geringen Restenzymaktivität der PK-R einen schweren klinischen Phänotyp aufweisen und dass Patienten mit einer höheren Restenzymaktivität einen milden Phänotyp aufweisen.

Zudem wurden systematisch die Notwendigkeit für regelmäßige Transfusionen sowie die Anwendung von Chelat-Therapie und die Komplikationen nach Chelat-Therapie erfasst. Ziel



war ebenso, den Anteil der Patienten zu bestimmen, bei denen weitere supportive Therapiemaßnahmen wie Splenektomie, prophylaktische antibiotische Therapie nach Splenektomie und Gabe von Folsäure benötigt werden.

Bei den Patienten, bei denen keine molekulargenetische Untersuchung des PKLR-Gens vorlag, wurde im Rahmen der Studie nach entsprechender schriftlicher Einwilligung der Patienten eine genetische Untersuchung durchgeführt, um die Diagnose zu sichern.

Mit der Beantwortung der Fragen zur Lebensqualität, zu dem klinischen Verlauf und zu den molekulargenetischen Eigenschaften des PK-Mangels soll die Aufmerksamkeit der Kliniker für diese seltene Erkrankung, ihre Komplikationen sowie die Lebensqualität dieser Patienten geweckt werden. Ziel ist es, anhand der hier vorgestellten Erkenntnisse die Erkrankung früher zu diagnostizieren sowie ihre Komplikationen kompetenter zu erfassen und adäquat zu behandeln.

3.Material und Methode

3.1. Studiendesign

Die Studie wurde als retrospektive und prospektiv-deskriptive Studie mit 2 Jahren prospektiver Beobachtungszeit angelegt. In der Studie wurden 28 in Deutschland lebenden und in die PKD Natural History Study eingeschlossene Patienten mit molekular genetisch nachgewiesenem homozygotem oder compound heterozygotem PK-Mangel der Erythrozyten erfasst. Die Studie ist einzigartig, weil es die erste Studie in Deutschland ist, die die Lebensqualität und den Gesundheitszustand von Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten erfasst.

3.2. Patienten

3.2.a. Allgemeine Informationen

Ziel der Pyruvatkinase Deficiency (PKD) Natural History Study, die vom Bostons Children's Hospital und der Medizinischen Fakultät in Harvard im Dezember 2013 begonnen wurde, war es, 250 Patienten mit homozygotem und compound heterozygotem PK-Mangel der Erythrozyten international zu erfassen. In der Studie wurden dann endgültig 254 Patienten eingeschlossen. Die Anamnese der Patienten wurde retrospektiv erfasst und die Patienten wurden prospektiv über 2 Jahre beobachtet. Die korrespondierenden deutschen Zentren sind: die Klinik für pädiatrische Hämatologie-, Onkologie, Psychosomatik- und Systemerkrankungen des Klinikums Kassel (lokaler PI: Frau Dr.Kollmar), das Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Heidelberg (lokaler PI: Herr Dr. Kunz), die Universitätskinderklinik Freiburg (lokaler PI: Herr Dr.Wlodarski) und die Praxis für Kinder- und Jugendmedizin in München (lokaler PI: Prof. Dr. Eber).

3.2.b. Ein- und Ausschlusskriterium

In der Arbeit wurden primär alle Patienten mit biochemischem oder molekulargenetischem Verdacht auf PK-Mangel der Erythrozyten eingeschlossen. Im Verlauf wurden die Patienten ausgeschlossen, die molekulargenetisch einen heterozygoten Trägerstatus hatten, so dass die Arbeit nur die homozygoten- oder compound heterozygoten Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten erfasst. Einschränkungen bezüglich des Alters oder des Geschlechts der Patienten bestanden nicht.

3.2.c. Ethik

Wir haben uns als Studienzentrum Kassel bei der Landesärztekammer Hessen über die mit unserem Forschungsvorhaben verbundenen berufsethischen Fragen beraten lassen und haben einen Ethikantrag an die Ethik- Kommission der Landesärztekammer Hessen am 01.07.2014 eingereicht. Die schriftliche Einverständniserklärung der Ethik- Kommission der Landesärztekammer Hessen ist dieser Arbeit angehängt.

3.2.d. Datenerhebung

Studienbeginn im Studienzentrum Klinikum Kassel ist Juni 2015. Insgesamt wurden 65 Patienten mit Verdacht auf PK-Mangel der Erythrozyten per Post angeschrieben. Jeder Patient hat einen Patienteninformationsbogen für die Pyruvatkinase Deficiency Natural History Study und eine Einverständniserklärung erhalten. Zudem hat jeder Patient abhängig vom Lebensalter standardisierte Fragebögen (EuroQuol-5D, FACT-An, Fatigue Short Form 7a, PedsQL 4.0, Peds FACIT-F, PROMIS Short Form Fatigue) zur Erfassung der Lebensqualität, des Gesundheitszustandes und der Müdigkeit erhalten.

Die erwachsenen Patienten haben die deutsche Version des standardisierten Gesundheitsfragebogens „EuroQuol-5D“, den Fragebogen „FACT-An“ (Erfassung körperliches und seelisches Wohlbefinden, Funktionsfähigkeit, Verhältnis zu Freunden und Familie und zusätzliche Faktoren wie Sexualleben und Schmerzen), sowie den Müdigkeitsfragebogen „Fatigue Short Form 7a“ erhalten.

Die minderjährigen Patienten haben eine Einverständniserklärung für den Sorgeberechtigten, sowie den pädiatrischen Fragebogen zur Erfassung der Lebensqualität „PedsQL 4.0“, die pädiatrische funktionelle Beurteilung der Erfassung chronischer Erkrankungen-Erschöpfung „Peds FACIT-F“ und den Müdigkeitsfragebogen „PROMIS Short Form Fatigue“ erhalten.

Von den 65 Patienten haben 13 Patienten im Standort Kassel schriftlich eingewilligt an der Studie teilzunehmen. Bei minderjährigen Patienten erfolgte eine schriftliche Einwilligung der Sorgeberechtigten. Zum Teil waren ein paar dieser Patienten, die kontaktiert wurden, im Standort München schon erfasst.

Es erfolgte der telefonische Kontakt mit allen 13 Patienten bzw. ihren Sorgeberechtigten und die Anamnese wurde telefonisch mittels standardisierter Fragebögen erfasst. Zudem haben die Patienten bzw. ihre Sorgeberechtigten eingewilligt, dass alte Briefe und medizinische Daten von ihren behandelnden Ärzten und von ihren stationären Krankenakten angefordert werden. Im Verlauf wurden 6 Patienten von der Studie ausgeschlossen. 5 Patienten hatten einen heterozygoten Trägerstatus und 1 Patient hatte keine typische Mutation im PKLR Gen.

Folgende Daten wurden erhoben:

- Patientenalter bei Diagnosestellung, Herkunft, Kinderlosigkeit bzw. Anzahl der Kinder, Schwangerschaftsanamnese bei Frauen, Alkoholkonsum und Rauchgewohnheiten
- Biochemische (Bestimmung der Restenzymaktivität der Pyruvatkinase der Erythrozyten) und molekulargenetische Bestätigung des PK-Mangels der Erythrozyten. Bei Patienten ohne vorhandene molekulargenetische Bestätigung: Blutentnahme im Rahmen der Studie für molekulargenetische Untersuchung des PKLR Gens und Versand der Probe ins Forschungslabor Dr. Paola Bianchi/ Dr. Elisa Fermo, in Mailand.

- Pre-, peri- und postnatale Komplikationen (Ikterus, Frühgeburtlichkeit, Hydrops fetalis), postnatale Therapiemaßnahmen (Phototherapie, Austauschtransfusion).
- Alter bei Splenektomie und Cholezystektomie
- Transfusionshäufigkeit, Transfusionsgründe und Durchschnitts- Hämoglobinwert vor- und nach Splenektomie
- Symptomatik- und Komplikationen der Patienten aufgeteilt nach Organsystemen
- Klinischer Befund und Somatogramm der Patienten bei der letzten klinischen Untersuchung
- Eisenüberladung mit Erfassung des Verlaufs des Ferritinwerts ein Jahr vor Einschluss und über die 2 Jahre der prospektiven Beobachtungszeit
- Retrospektive Anamnese und prospektive Erfassung der Chelattherapie und der Nebenwirkungen der Chelattherapie
- Anamnese der bakteriellen Infektionen des Patienten
- Thromboseanamnese, zeitliche Korrelation der Thrombose zur Splenektomie und Thrombolyse
- Aktuelle Medikation im Rahmen der Therapie für PK-Mangel inklusive homöopatischer Medikation
- Letzte Blutbilduntersuchungen, LDH- und Bilirubinwerte vor dem Einschluss und erneute Erfassung einmal jährlich prospektiv über 2 Jahre

Nach Rücksprache mit den anderen drei zuständigen Forschungszentren in Deutschland (München, Freiburg und Heidelberg) und nach Einwilligung der Studienleiter wurden die entsprechenden Daten der Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten aus den anderen deutschen Forschungszentren in diese Arbeit eingeschlossen. 21 Patienten wurden aus diesen 3 Zentren eingeschlossen, so dass in dieser Arbeit insgesamt 28 Patienten retrospektiv untersucht und prospektiv beobachtet werden.

Es folgte nach Einschluß innerhalb der folgenden 2 Jahre eine jährliche Verlaufskontrolle des klinischen Zustandes und eine erneute Erhebung der oben genannten Daten der Patienten.

3.2.e. Auswertung, graphische Darstellung der Ergebnisse und Zitieren

Die Auswertung, Verarbeitung und graphische Darstellung der Parameter erfolgte mit den Computerprogrammen Microsoft Excel und Microsoft Word. Die Patientendaten der verschiedenen Zentren wurden zunächst komplett in eine Excel-Tabelle aufgenommen. Aus dieser Tabelle wurden kleinere Tabellen erstellt. Anschließend erfolgte die weitere Auswertung, graphische Darstellung und Übertragung in Microsoft Word. Für den statistischen Vergleich der Daten wurde der Mann-Whitney Test verwendet. Die Literatur wurde mit Hilfe von Citavi verwaltet.

4. Ergebnisse

4.1. Alter- und Geschlechtsverteilung der Patienten mit PK-Mangel bei Diagnosestellung und zum Einschlusszeitpunkt

In unserer Studie wurden insgesamt 28 Patienten untersucht. Dies sind 90% (28 von 31) der Patienten aus Deutschland, die an der PKD Natural History Study teilgenommen haben. Davon waren 39% der Patienten weiblich (11 von 28) und 61% (17 von 28) männlich. Diese Arbeit ist die größte Studie von Patienten mit PK-Mangel in Deutschland. In der internationalen PKD Natural History Study wurden weltweit 254 Patienten mit PK-Mangel eingeschlossen (Grace et al. 2018a), so dass unsere Patienten 11% dieser Patienten entsprechen.

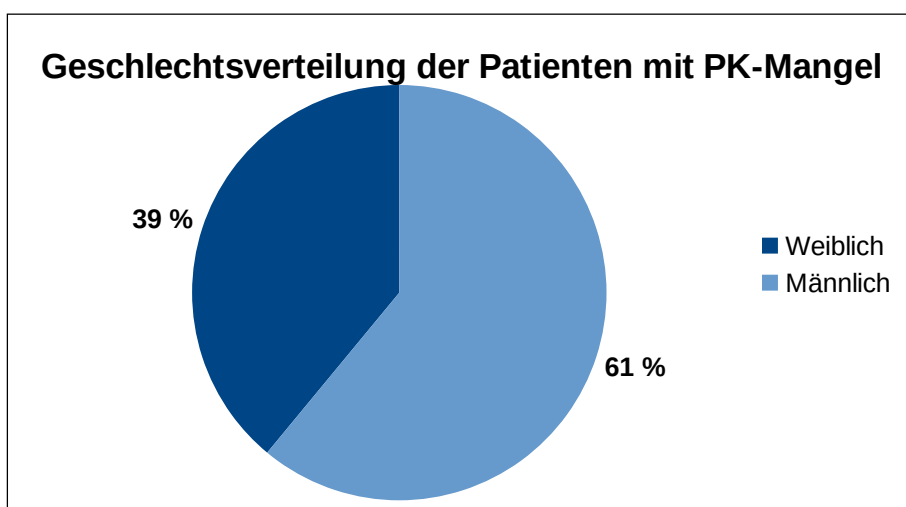


Abbildung 3: Geschlechtsverteilung der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland

Zum Zeitpunkt des Einschlusses waren 64 % (18 von 28) der Patienten minderjährig und 36% (10 von 28) der Patienten volljährig.

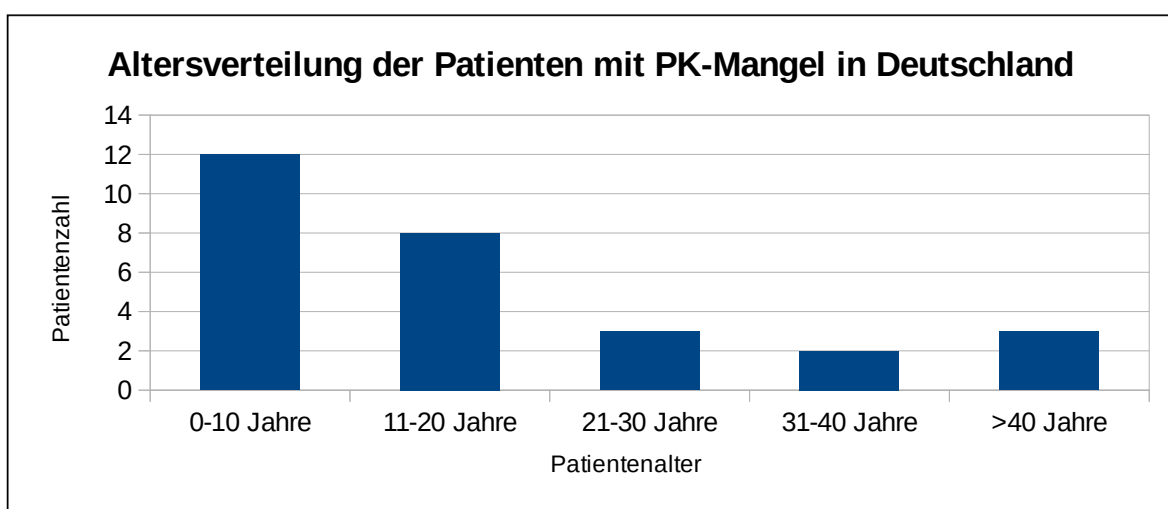


Abbildung 4: Altersverteilung der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland

43% (12 von 28) der Patienten waren bei Einschluss jünger als 10 Jahre, 29% (8 von 28) der Patienten waren zwischen 11 und 20 Jahre, 11% (3 von 28) zwischen 21 und 30 Jahre, 7% (2 von 28) zwischen 31 und 40 Jahre und 11% (3 von 28) älter als 40 Jahre. Die Analyse unserer Patienten zeigte, dass 86% (24 von 28) der Patienten bei Diagnosestellung jünger als 10 Jahre waren. Bei 36% (10 von 28) der Patienten wurde die Diagnose im ersten Lebensjahr gestellt. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung war 6,9 Jahre.

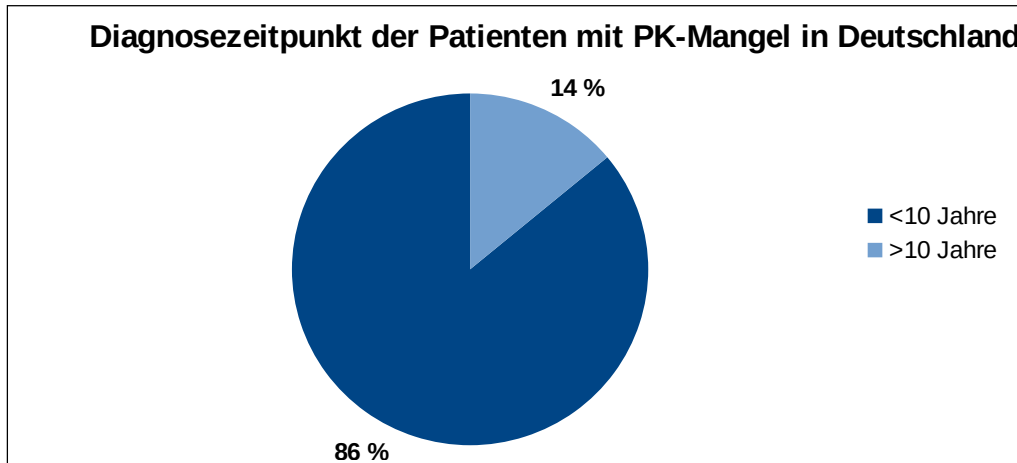


Abbildung 5: Diagnosezeitpunkt der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland

4.2 Gesundheitszustand, Lebensqualität und Müdigkeitsgrad der Patienten bei Einschluss

1. Volljährige Patienten: Zum Zeitpunkt des Einschlusses haben alle volljährigen Patienten mit PK-Mangel die deutsche Version des standardisierten Gesundheitsfragebogens „EuroQol-5D-5L“ ausgefüllt. Die Patienten haben verschiedene Fragen zu Mobilität, Selbstständigkeit, alltäglichen Tätigkeiten, Schmerzen/Beschwerden und Angst/ Depression beantwortet. Die Patienten haben anhand von einer visuellen Analogskala (VAS) von 0 bis 100 beurteilt, wie gut oder schlecht ihre Gesundheit zu diesem Zeitpunkt war. 100 entsprach der besten Gesundheit, und 0 der schlechtesten Gesundheit, die die Patienten sich vorstellen konnten. Das mittlere Alter der volljährigen Patienten war 34,6 Jahre. 40% (4 von 10 Patienten) haben eine „Note“ von <60/ 100 (erhebliche Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes) in der VAS gegeben, 20% (2 von 10) eine Note von 60-80 /100 (moderate Beeinträchtigung) und 40% (4 von 10) eine Note von >80/100 (leichte bis keine Beeinträchtigung) gegeben (Abbildung 6).

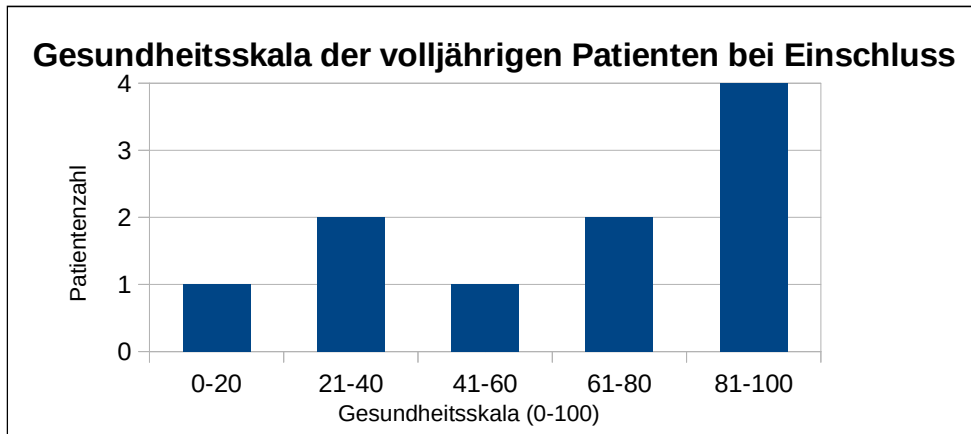


Abbildung 6: Gesundheitsskala (0-100) der volljährigen Patienten mit PK-Mangel in Deutschland bei Einschluss

Der Mittelwert betrug 66 (Streubreite 20-99) in einer VAS von 0-100. Die Standardabweichung betrug 28,5.

Bei 60% (6 von 10) der volljährigen Patienten in unserer Studie bestanden Komorbiditäten (Bronchiolitis obliterans, Osteopenie, Schilddrüsenknoten, Thrombophilie bei Homozysteinämie, Arrhythmie, hereditäre Hämochromatose, Morbus Gilbert). Das Durchschnittsalter dieser Gruppe der Patienten betrug 38,3 Jahre. 40% (4 von 10) der volljährigen Patienten hatten einen PK-Mangel als einzige Diagnose (Tabelle 2). Diese Patienten waren deutlich jünger mit einem Durchschnittsalter von 23,8 Jahren.

Tabelle 2: Gesundheitszustand der volljährigen Patienten mit PK-Mangel im Vergleich zum Alter und zu Komorbiditäten

| Volljährige Patienten mit PK-Mangel | Durchschnittliche VAS (0-100) der volljährigen Patienten mit PK-Mangel | Durchschnittliches Alter der Patienten in Jahren |
|-------------------------------------|--|--|
| Alle Patienten | 66 | 34,6 |
| Mit Komorbiditäten | 54 | 38,3 |
| Ohne Komorbiditäten | 84 | 23,8 |

Die Patienten wurden prospektiv über 2 Jahre einmal jährlich mittels VAS beobachtet. Das einjährige Follow up konnte bei 8 Patienten komplettiert werden und der mittlere VAS Wert betrug 67/100 (Streubreite 35-95). Das zweijährige Follow up konnte auch bei 8 Patienten komplettiert werden und der mittlere VAS Wert betrug 76/100 (Streubreite 43-99).

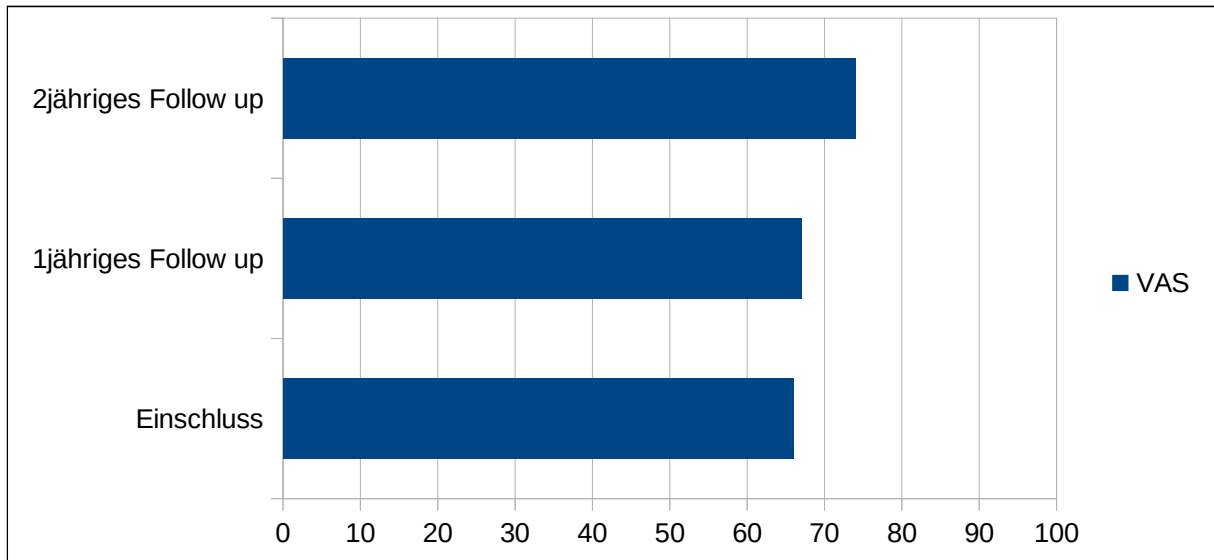


Abbildung 7: Visuelle Analogskala (VAS) der volljährigen Patienten mit PK-Mangel in der prospektiven Beobachtungszeit von 2 Jahren

2. Minderjährige Patienten

2.a. Lebensqualität

Bei den minderjährigen Patienten konnten wir altersassoziiert mittels Fragebögen Daten zur Lebensqualität entweder nur von den Eltern (Kinder <5 Jahre) oder von Eltern und Kind (Kinder \geq 5 Jahre) erfassen. Insgesamt waren 50 % (9 von 18) der minderjährigen Patienten jünger als 5 Jahre und 50% (9 von 18) älter als 5 Jahre.

Wir konnten bei Einschluss Daten zur Lebensqualität von 16 pädiatrischen Patienten mit PK-Mangel sammeln. 31 % (5 von 16) dieser Patienten hatten eine milde Anämie ($Hb >10$ und ≤ 12 g/dl), 6% (1 von 16) eine moderate Anämie ($Hb 8-10$ g/dl) und 63% (10 von 16) eine schwere Anämie ($Hb < 8$ g/dl). Diese Patienten wurden in 2 Gruppen wie folgt aufgeteilt:

1. 8 Patienten von 5 bis 18 Jahre. 63% (5 von 8) dieser Patienten hatten eine milde Anämie ($Hb >10$ und ≤ 12 g/dl) und 37% (3 von 8) eine schwere Anämie ($Hb < 8$ g/dl).

2. 8 Patienten < 5 Jahre. 12% (1 von 8) dieser Patienten hatten eine moderate Anämie ($Hb 8-10$ g/dl) und 88% (7 von 8) eine schwere Anämie ($Hb < 8$ g/dl).

Die Eltern von den minderjährigen Patienten haben anhand von einem standardisierten Fragebogen (PedsQL- Parent Proxy Version) verschiedene Fragen zur Lebensqualität ihrer Kinder in einer Skala von 0-4 beantwortet (Fragebogen im Anhang). Ebenso haben alle Kinder älter als 5 Jahre entsprechende altersadaptierte Fragebögen zu ihrer Lebensqualität ausgefüllt (PedsQL- Child Self-Report Version 4.0). Die Kinder haben wie ihre Eltern verschiedene Aspekte ihrer Lebensqualität in einer Skala von 0-4 bewertet. Die oben genannten Fragebögen sind dem Anhang zu entnehmen.

Insgesamt wurden 4 Bereiche der Lebensqualität erfasst: körperlicher Bereich, emotionaler Bereich, sozialer und schulischer Bereich. Aus diesen Daten konnten 2 verschiedene Scores berechnet werden. Der körperliche Gesundheitszustand der Patienten wurde mittels des Physical Health Summary Score erfasst. Die psychosoziale Gesundheit der Patienten wurde mittels des Psychosocial Health Summary Score erfasst. Die psychosoziale Gesundheit beinhaltet alle von den Patienten oder deren Eltern beantwortete Fragen zum emotionalen, sozialen und schulischen Bereich.

Um die gesundheitsbezogene Lebensqualität (Health-Related Quality of Life-HRQL) besser zu definieren, wurden die Ergebnisse in einer Skala von 0 bis 100 umgerechnet. Es erfolgte eine Umrechnung nach den empfohlenen Regeln von PedsQL wie folgt:

0 = 100, 1 = 75, 2 = 50, 3 = 25, 4 = 0.

Höhere HRQL Scores entsprechen somit auch einer besseren Lebensqualität. In gesunden pädiatrischen Populationen wurden in mehreren Studien durchschnittliche HRQL Scores > 75 in allen 4 Bereichen beschrieben (Varni et al. 2001; Reinfjell et al. 2006; Amiri et al. 2012).

Die durchschnittlichen HRQL Scores der pädiatrischen Patienten mit PK-Mangel werden in den folgenden Tabellen zusammengefasst. Der Mittelwert wird in einer Skala von 0 bis 100 berechnet.

In der Tabelle 3 werden die Physical- und die Psychosocial Health Summary Scores aller 16 pädiatrischen Patienten anhand der von den Eltern ausgefüllten Fragebögen zusammengefasst.

Tabelle 3: HRQL Scores von 16 pädiatrischen Patienten mit PK-Mangel (PedsQL – Parent Proxy Version 4.0)

| Lebensbereich | Mittelwert | Streubreite |
|--|------------|-------------|
| Physical Health Summary Score | 79,10 | 0-100 |
| Psychosocial Health Summary Score | 79,81 | 21,15-100 |

In der Tabelle 4 werden die Daten aus der Selbsteinschätzung der Kinder älter als 5 Jahre zusammengefasst (Child Self Report Version) und in der Tabelle 5 wird die Einschätzung der Gesundheit der Kinder von den Eltern zusammengefasst (Parent Proxy Version).

Tabelle 4: HRQL Scores der minderjährigen Patienten älter als 5 Jahre mit PK-Mangel (PedsQL - Child Self-Report Version 4.0)

| Lebensbereich | Mittelwert HRQL | Streubreite |
|--|-----------------|-------------|
| Physical Health Summary Score | 89,45 | 78,13-100 |
| Psychosocial Health Summary Score | 84,10 | 63,33-100 |

Tabelle 5: HRQL Scores der minderjährigen Patienten älter als 5 Jahre mit PK-Mange (PedsQL – Parent Proxy Version 4.0)

| Lebensbereich | Mittelwert HRQL | Streubreite |
|--|-----------------|-------------|
| Physical Health Summary Score | 83,59 | 46,86-100 |
| Psychosocial Health Summary Score | 81,02 | 43,33-93,33 |

In der Tabelle 6 wird die Einschätzung der Gesundheit der Kinder jünger als 5 Jahre von den Eltern zusammengefasst (Parent Proxy Version).

Tabelle 6: : HRQL Scores der minderjährigen Patienten jünger als 5 Jahre mit PK-Mangel (PedsQL – Parent Proxy Version 4.0).

| Lebensbereich | Mittelwert HRQL | Streubreite |
|--|-----------------|-------------|
| Physical Health Summary Score | 74,60 | 59,30-100 |
| Psychosocial Health Summary Score | 78,60 | 21,15-100 |

Die oben genannten Daten werden schematisch in den folgenden Abbildungen dargestellt.

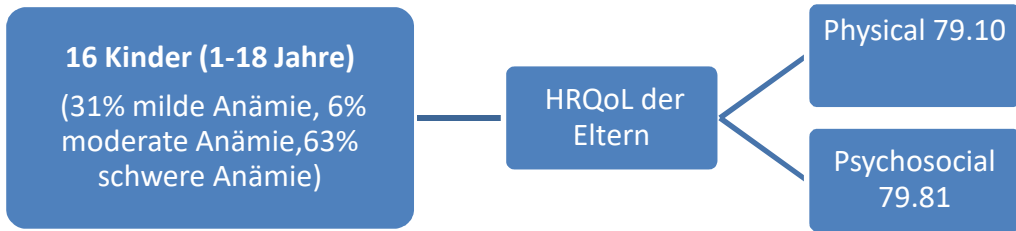


Abbildung 8: Grafische Darstellung der HRQoL Scores 16 Kinder mit PK-Mangel (Scores nach Bewertung der Eltern)

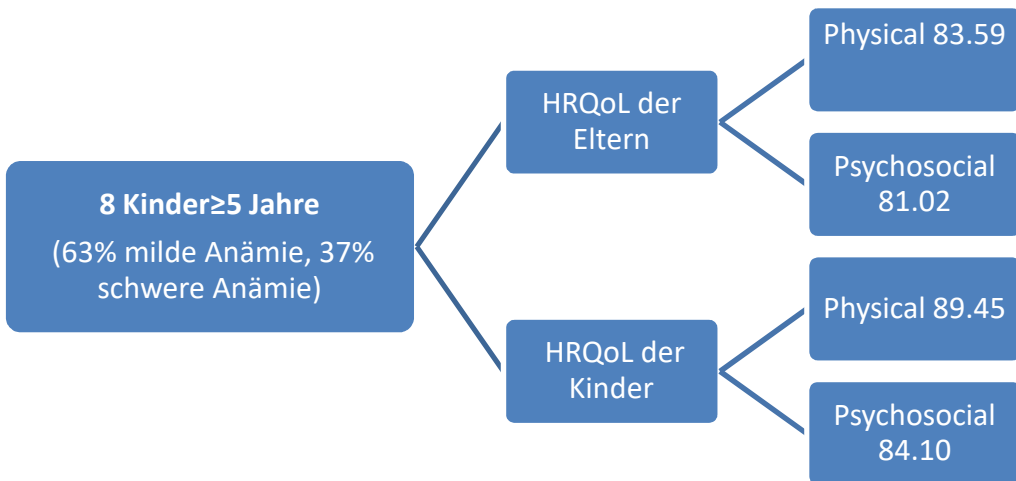


Abbildung 9: Grafische Darstellung der HRQoL Scores von Kindern \geq 5 Jahre mit PK-Mangel

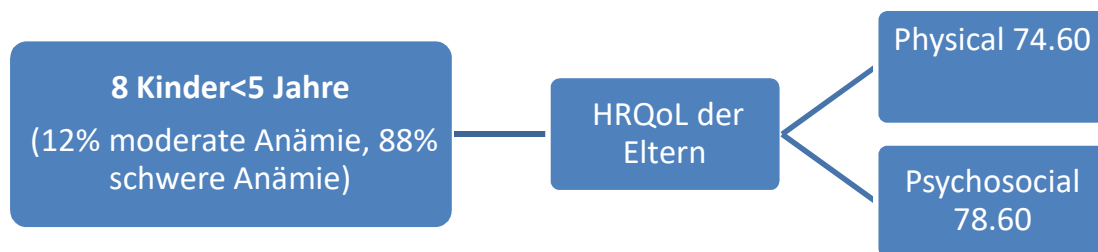


Abbildung 10: Grafische Darstellung der HRQoL Scores von Kindern $<$ 5 Jahre mit PK-Mangel

PedsQL Scores ≥ 81 werden in der Literatur als Parameter für einen guten HRQoL, 61-80 für einen moderaten HRQoL und ≤ 60 für einen schlechten HRQoL beschrieben (Beverung et al. 2015).

Die oben genannten Daten wurden statistisch mittels dem Man Whitney U Test analysiert.

Die mittleren PedsQL Scores von allen 16 Kindern nach Bewertung der Eltern waren 79.10 (Streuung: 0-100) in dem Physical- und 79.81 (Streuung: 21.15 -100) in dem Psychosocial Health Summary Score.

Die mittleren PedsQL Scores der Kinder ≥ 5 Jahre waren 89.45 (Streuung: 78.13 -100) in dem Physical - und 84.10 (Streuung: 63.33 -100) in dem Psychosocial Health Summary Score. Diese Ergebnisse unterscheiden sich nicht statistisch signifikant von den mittleren elterlichen Scores (83.59, Streubreite: 46.86-100 im Physical, $p=0.42$ - und 81.02, Streubreite: 43.33-93.33 im Psychosocial Health Summary Score, $p=0.13$). Diese Ergebnisse sprechen für einen guten HRQoL in der Altersgruppe der Kinder ≥ 5 Jahre.

Die mittleren PedsQL Scores nach Bewertung der Eltern der Kinder < 5 Jahre unterscheiden sich nicht statistisch signifikant von den mittleren elterlichen Scores von Kindern ≥ 5 Jahre (74.60, Streubreite: 59.3-100, versus 83.59, Streubreite: 46.86-100 im Physical-, $p=0.28$ – und 78.60, Streubreite: 21.15-100, versus 81.02, Streubreite: 43.33-93.33 im Psychosocial Health Summary Score, $p= 0.33$). Die mittleren elterlichen PedsQL Scores von Kindern < 5 Jahre sprechen für einen moderaten HRQoL in dieser Altersgruppe.

4.3. Ikterus neonatorum und Therapie des Ikterus bei Patienten mit PK-Mangel

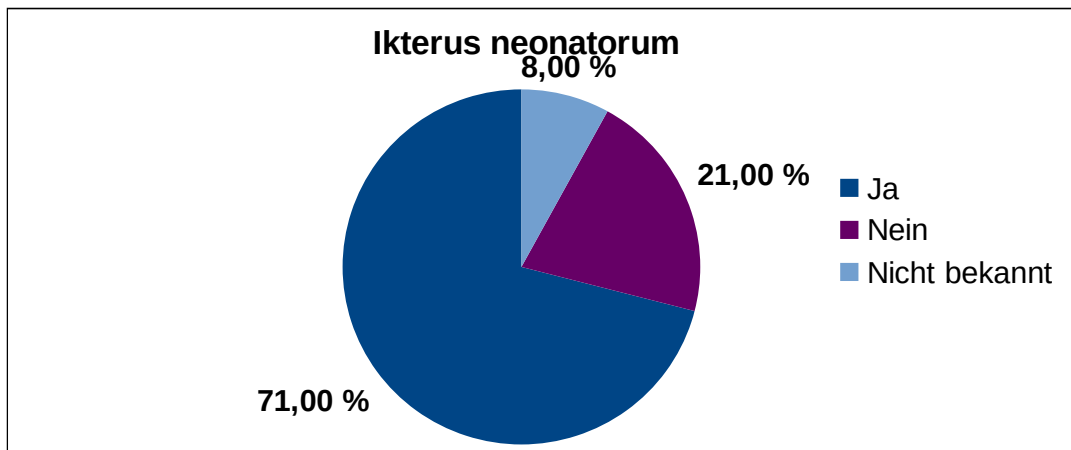


Abbildung 11: Ikterus neonatorum bei Patienten mit PK-Mangel

71% (20 von 28) der Patienten hatten einen Neugeborenenikterus. Bei 21% (6 von 28 Patienten) wurde kein Neugeborenenikterus festgestellt und bei 8 % (2 von 28 Patienten) konnten keine Daten zu der Fragestellung gefunden werden.

Bei allen Patienten mit Ikterus neonatorum bestand ein Ikterus gravis, der mit Phototherapie oder Austauschtransfusion behandelt wurde. Bei 50 % (10 von 20) der Patienten war eine

Phototherapie ausreichend, 15 % (3 von 20) der Patienten benötigten direkt eine Austauschtransfusion und 30 % (6 von 20) der Patienten beide Therapien. Bei 5% der Patienten (1 von 20) mit Neugeborenenikterus war die Therapie nicht bekannt.

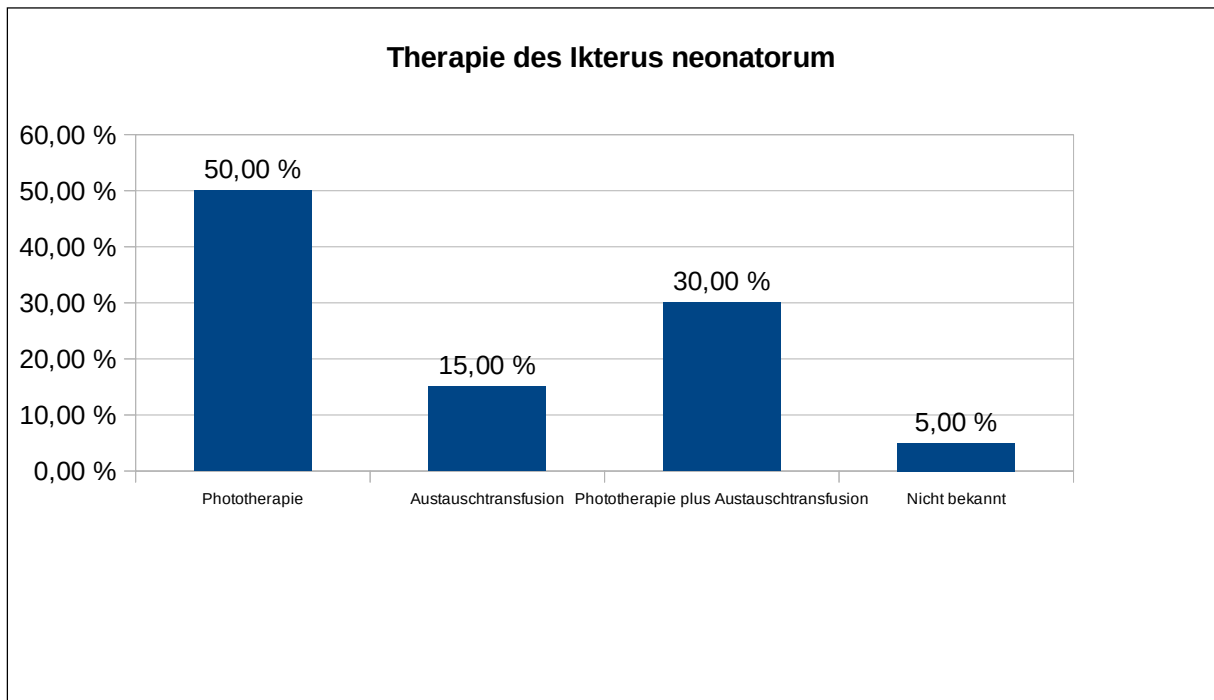


Abbildung 12: Therapie des Ikterus neonatorum bei Patienten mit PK-Mangel

4.4. LDH und indirektes Bilirubin im Durchschnitt in den letzten 5 Jahren vor Einschluss und im Verlauf

Bei Patienten mit PK-Mangel sind LDH und indirektes Bilirubin häufig verwendete Hämolyseparameter. Bei Einschluss lagen Daten zu dem mittleren indirekten Bilirubinwert (mg/dl) bei 89% (25 von 28) der Patienten vor. Bei 11% (3 von 28) der Patienten war dieser Wert nicht bekannt. Die Patienten hatten im Durchschnitt einen indirekten Bilirubinwert von 4,3 mg/dl (Streubreite 0,8-12,4).

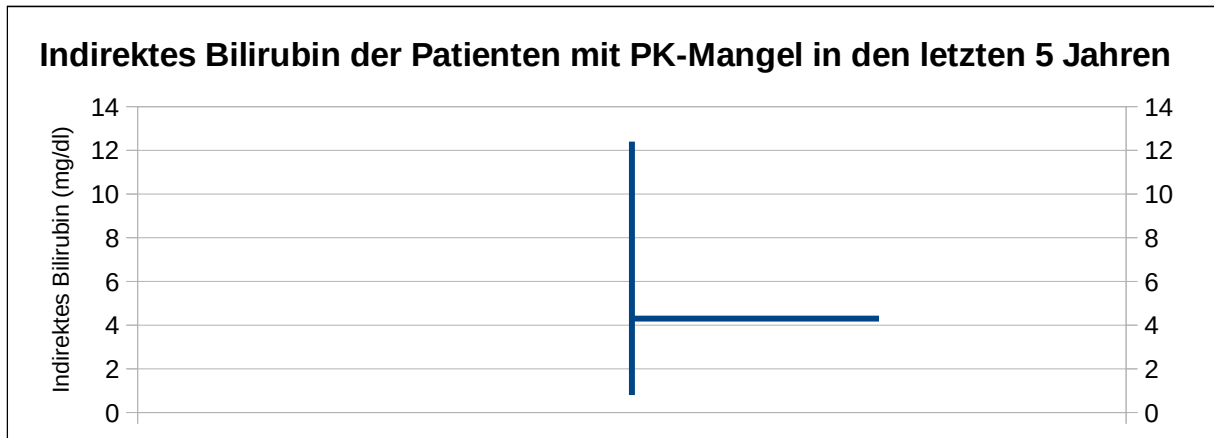


Abbildung 13: Streubreite des indirekten Bilirubinwertes der Patienten mit PK-Mangel in den letzten 5 Jahren

Daten zu dem mittleren indirekten Bilirubinwert 1 Jahr und 2 Jahre nach Einschluss lagen bei 61 % (17 von 28) bzw. 36 % (10 von 28) der Patienten vor. Der mittlere indirekte Bilirubinwert 1 Jahr und 2 Jahre nach Einschluss lag bei 4,7 mg/dl (Streubreite 0,5-9,7) bzw. 4,2 mg/dl (Streubreite 1,2-8,5). Diese Daten werden in der Abbildung 14 zusammengefasst.

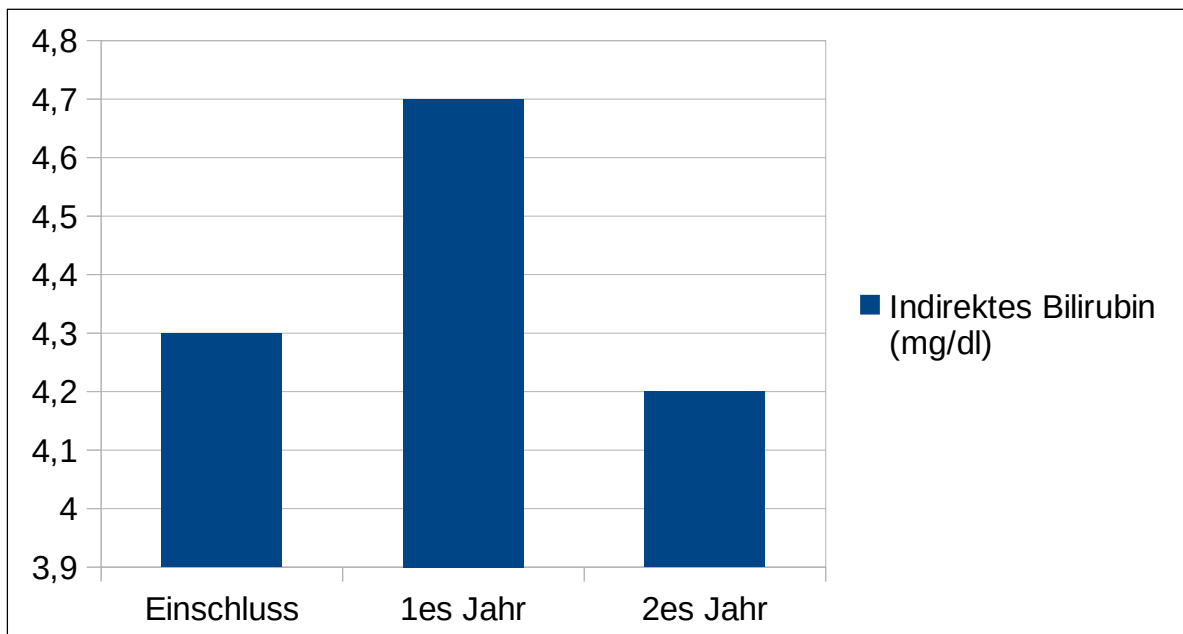


Abbildung 14: Verlauf des indirekten Bilirubinwertes (Mittelwert aller Patienten) in der zweijährigen Beobachtungszeit

Daten zu dem mittleren LDH Wert der letzten 5 Jahre lagen bei Einschluß bei 96% (27 von 28) der Patienten vor. Bei 4% (1 von 28) der Patienten war der Mittelwert nicht bekannt. Die Patienten hatten im Durchschnitt einen LDH Wert von 558 U/L (Streubreite 156- 1452). Bei 43% (12 von 28) der Patienten wurde ein normwertiger LDH Wert gemessen (Säuglinge <400 U/L, nach dem ersten Lebensjahr <300 U/L). Alle Patienten mit einem normwertigen LDH Wert hatten einen erhöhten Wert für indirektes Bilirubin.

LDH bei Patienten mit PK-Mangel in den letzten 5 Jahren vor Einschluss

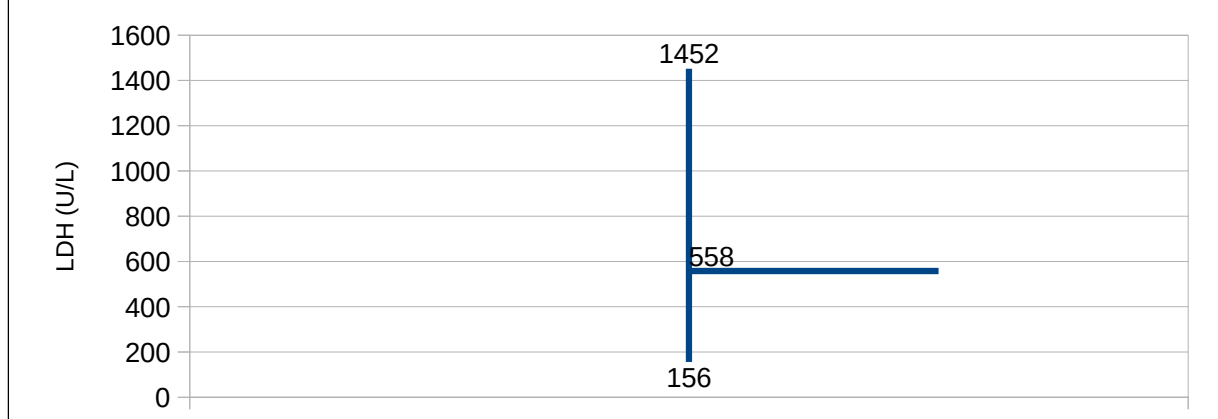


Abbildung 15: Streubreite der LDH der Patienten mit PK-Mangel in den letzten 5 Jahren (Mittelwert wird als horizontale Linie im Balkendiagramm abgebildet)

Daten zu dem mittleren LDH Wert 1 Jahr und 2 Jahre nach Einschluss lagen bei 61 % (17 von 28) bzw. 57 % (16 von 28) der Patienten vor. Der mittlere LDH Wert 1 Jahr und 2 Jahre nach Einschluss liegt bei 688 IU/l (Streubreite 166-2158) bzw. 510 IU/l (Streubreite 206 - 1256).

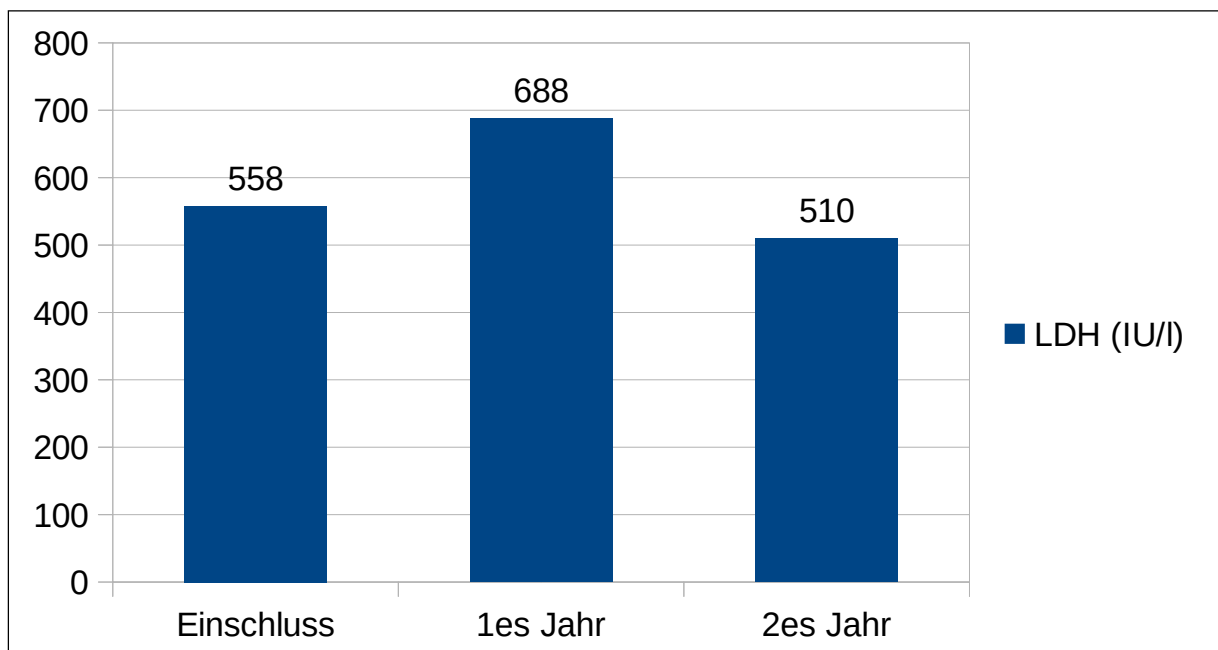


Abbildung 16: Verlauf des LDH-Wertes (Mittelwert aller Patienten) in der zweijährigen Beobachtungszeit

4.5. Durchschnitts Hämoglobinwert vor Transfusion in den letzten 5 Jahren

Wir konnten Daten zu dem mittleren Hämoglobinwert der letzten 5 Jahre bei 96% (27 von 28) der Patienten sammeln. In der folgenden Abbildung wird der mittlere Hämoglobinwert der letzten 5 Jahre präsentiert. Bei regelmäßig transfundierten Patienten wurde der mittlere Hämoglobinwert vor Transfusion angegeben.

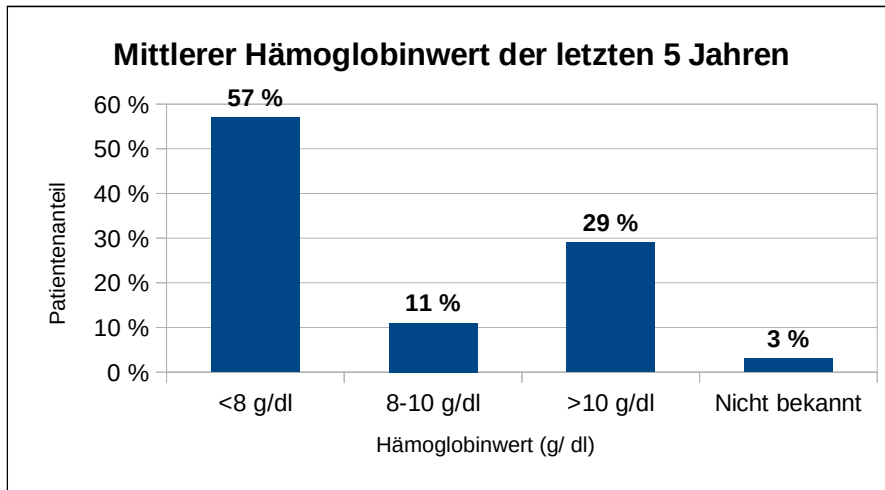


Abbildung 17: Mittlerer Hämoglobinwert der letzten 5 Jahre

57% (16 von 28) der Patienten hatten in den letzten 5 Jahren vor Einschluss eine schwere Anämie mit einem mittleren Hämoglobinwert < 8 g/dl. 11% (3 von 28) der Patienten wiesen eine moderate Anämie mit einem Hämoglobinwert von 8-10 g/dl auf und 29% (8 von 28) hatten eine milde Anämie mit einem Hämoglobinwert > 10 g/dl.

4.6. Transfusionspflichtigkeit und Transfusionshäufigkeit

Die Transfusionspflichtigkeit von Patienten mit PK-Mangel ist von Patient zu Patient unterschiedlich und hat keine strenge Korrelation mit dem molekulargenetischen Befund oder mit der Restenzymaktivität. Es gibt Patienten, die in regelmäßigen Abständen transfundiert werden müssen und Patienten, die nur im Rahmen von Hochrisiko Situationen (präoperativ, Schwangerschaft) oder bei Vorhandensein von akuten hämolytischen Triggerfaktoren (Infektion) transfusionspflichtig werden. Es lagen Daten zur Transfusionspflichtigkeit bei allen Patienten vor. 86% der Patienten (24 von 28) hatten mindestens ein Mal bis zum Einschluss in diese Arbeit eine Transfusion von Erythrozytenkonzentraten benötigt, während 14% der Patienten (4 von 28) keine einzige Transfusion erhalten haben.

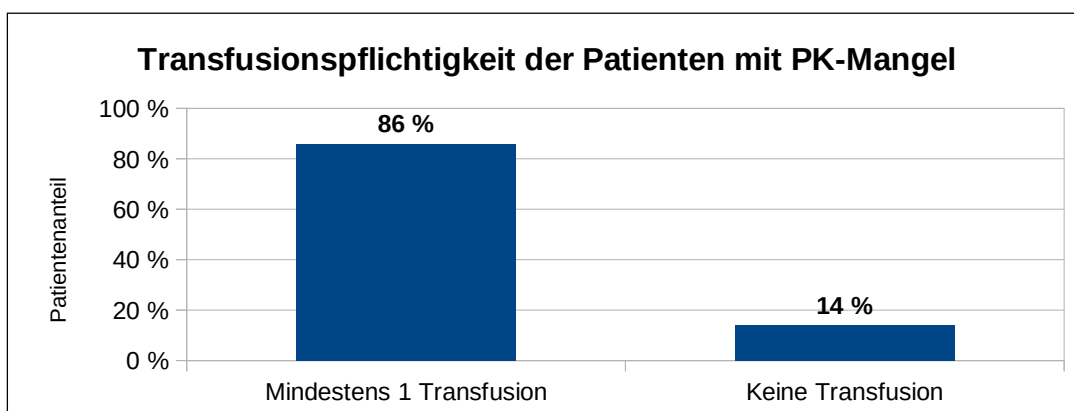


Abbildung 18: Transfusionspflichtigkeit der Patienten mit PK-Mangel

64% der Patienten (18 von 28) mussten schon als Neugeborene transfundiert werden.

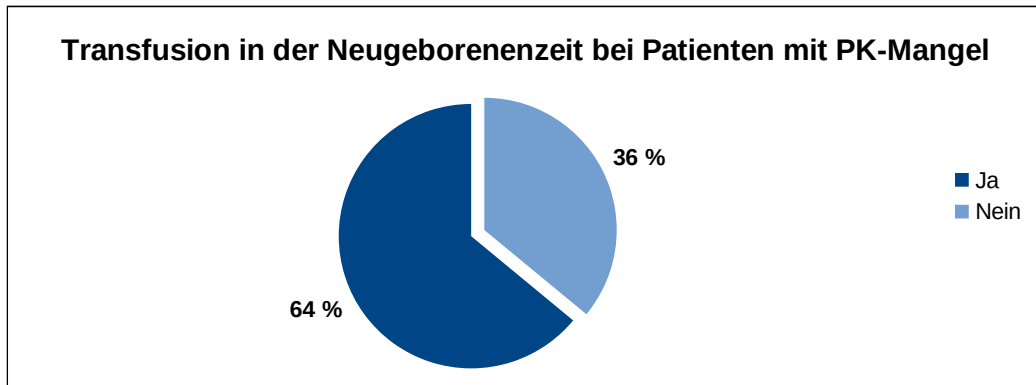


Abbildung 19: Transfusion in der Neugeborenenzeit bei Patienten mit PK-Mangel

54% der Patienten (15 von 28) waren bei Einschluss chronisch transfusionspflichtig (≥ 6 Transfusionen in 12 Monaten). Nur 14% der Patienten (4 von 28) mussten ausschließlich bei akuten Ereignissen transfundiert werden. 18% der Patienten (5 von 28) benötigten eine Transfusion ausschließlich in der Neugeborenenzeit und waren dann im Verlauf und bis zum Einschluss in diese Studie nicht mehr transfusionspflichtig.

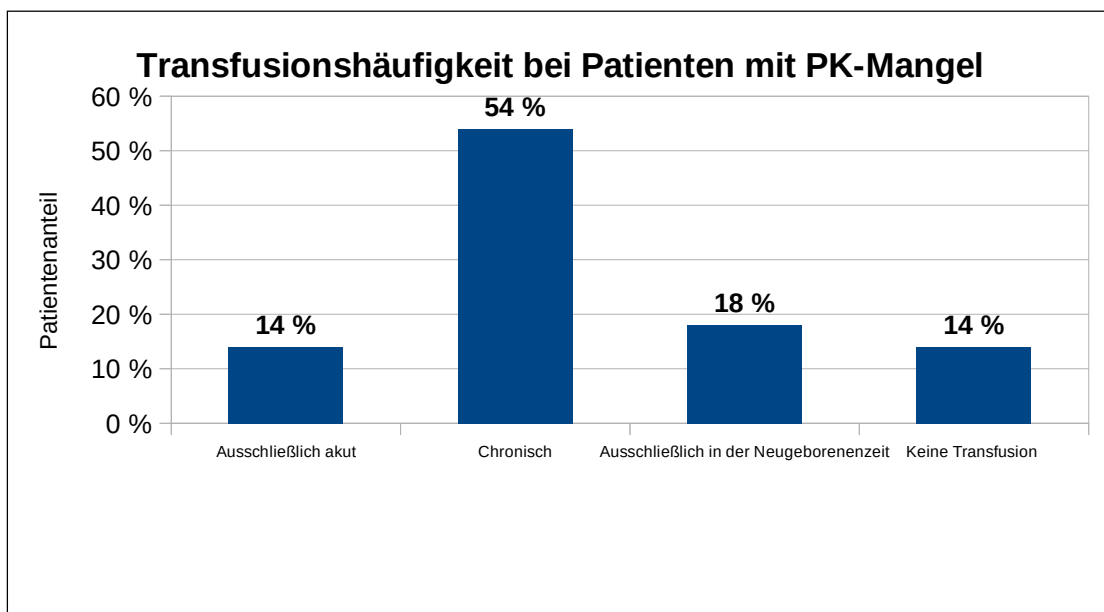


Abbildung 20: Transfusionshäufigkeit bei Patienten mit PK-Mangel

Es gibt verschiedene Triggerfaktoren, die zu einer Verstärkung der Hämolyse und akuter Transfusionspflichtigkeit führen. Bei 29% der Patienten (8 von 28) war es im Rahmen einer Infektion zur Transfusionspflichtigkeit gekommen und 18% (5 von 28) benötigten präoperativ eine Transfusion.

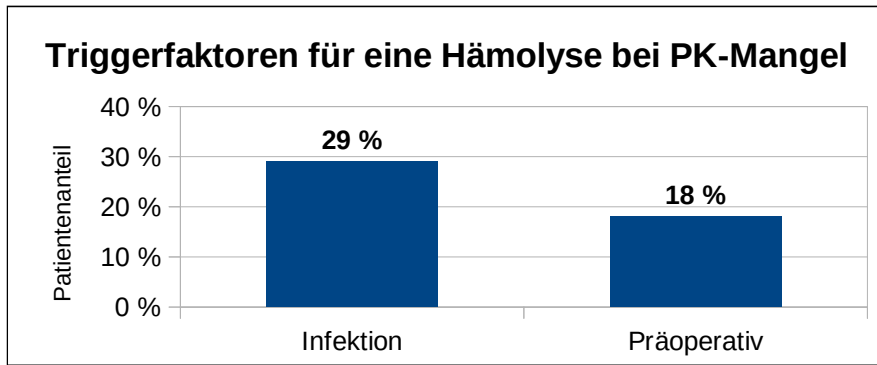


Abbildung 21: Triggerfaktoren einer Hämolyse bei Patienten mit PK-Mangel

4.7. Eisenüberladung und Transfusionspflichtigkeit

Folgende Parameter gelten als Kriterien für Eisenüberladung bei Patienten mit PK-Mangel (van Beers et al. 2018):

- Ferritin >1000 ng/ml
- Chelat-Therapie in den letzten 12 Monaten vor Einschluss in der Studie
- Pathologische Lebereisenmessung (je nach Methode entsprechende Normwerte, siehe Kapitel 1.4)
- Pathologische Herzeisenmessung (siehe Kapitel 1.4)

Mittels des Ferritinwerts kann der Grad der Eisenüberladung bei Patienten mit PK-Mangel indirekt bestimmt werden. In der Abbildung 22 werden die mittleren Ferritinwerte der Patienten zusammengefasst.

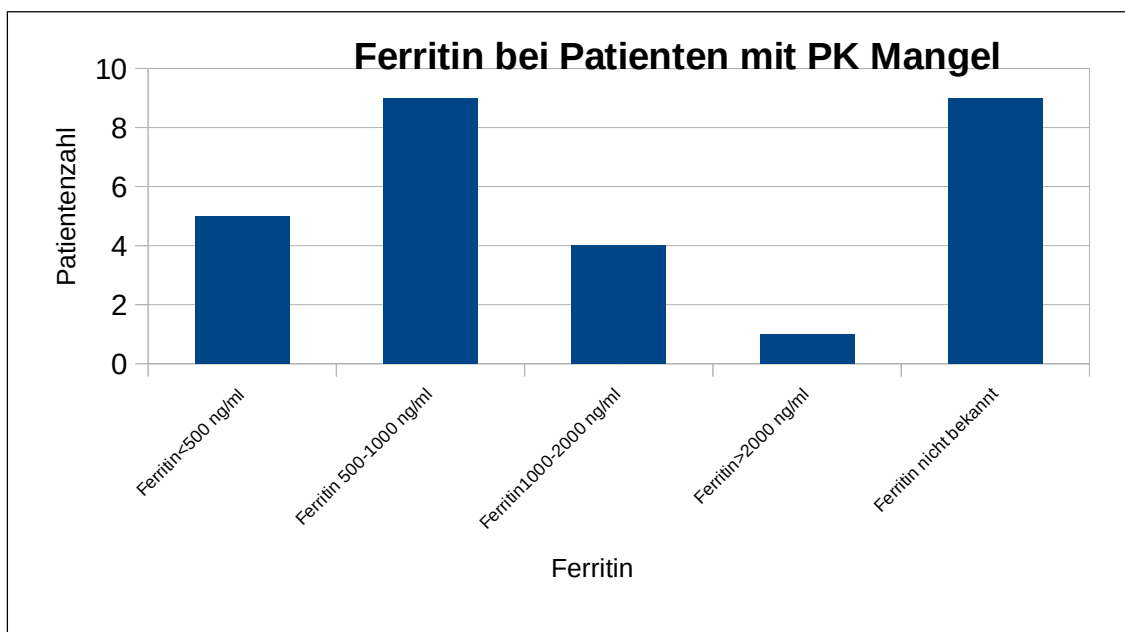


Abbildung 22: Ferritin bei Patienten mit PK Mangel

Der mittlere Ferritinwert lag bei 853 ng/ml. Ein Ferritinwert >1000 ng/ml gilt als Kriterium für eine Eisenüberladung und als Indikation für eine Chelat-Therapie. In dieser Studie hatten 18% (5 von 28) der Patienten einen Ferritinwert > 1000 ng/ml und erfüllten somit ein Kriterium für die Eisenüberladung. In der Tabelle 7 wurde der durchschnittliche Ferritinwert der Patienten in den letzten 12 Monaten vor Einschluss in der Studie zusammengefasst. Die Transfusionspflichtigkeit der Patienten wurde zum Vergleich mit dem Ferritinwert korreliert. Bei erhöhten Ferritinwerten handelt es sich um repetitiv erhöhte Messungen.

Tabelle 7: Durchschnittlicher Ferritinwert in den letzten 12 Monaten vor Einschluss im Vergleich zur Transfusionspflichtigkeit

| Transfusionspflichtigkeit | Ferritin nicht bekannt | Ferritin <500 ng/ml | Ferritin 500-1000 ng/ml | Ferritin 1000-2000 ng/ml | Ferritin >2000 ng/ml |
|--|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Keine Transfusionen | 14% (4 von 28) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Transfusionen nur als Neugeborene | 14% (4 von 28) | 4% (1 von 28) | 0 | 0 | 0 |
| Transfusionen nur für akutes Ereignis | 4% (1 von 28) | 4% (1 von 28) | 4% (1 von 28) | 4% (1 von 28) | 0 |
| Chronisch transfusionspflichtig | 0 | 11% (3 von 28) | 28% (8 von 28) | 11% (3 von 28) | 4% (1 von 28) |

14% der Patienten (4 von 28) waren nie transfusionspflichtig. Bei diesen Patienten lag keine Ferritinbestimmung in den letzten 12 Monaten vor Einschluss vor. 18% der Patienten (5 von 28) benötigten eine Transfusion ausschließlich in der Neugeborenenzeit. Bei 80% von diesen Patienten (4 von 5) lag ebenso keine Ferritinbestimmung in den letzten 12 Monaten vor. Bei 20% dieser Patienten (1 von 5) erfolgte eine Ferritinbestimmung in den letzten 12 Monaten, die einen Wert < 500 ng/ml zeigte. Ebenso erfolgte eine Ferritinbestimmung bei einem Patienten, der nur im Rahmen einer Infektion transfusionspflichtig wurde, die auch einen Wert < 500 ng/ml zeigte.

Die meisten Patienten der Studie (54%-15 von 28) waren sowohl im Rahmen von akuten Ereignissen bzw. als Neugeborene, als auch chronisch transfusionspflichtig. Bei all diesen Patienten liegt eine Ferritinbestimmung in den letzten 12 Monaten vor. Zu dieser Gruppe gehörten die Patienten mit den höchsten Ferritinwerten (siehe Tabelle 7). 80% (12 von 15) der Patienten in dieser Gruppe hatten einen Ferritinwert >500 ng/ml.

4.8. Lebereisenmessung und Herzeisenmessung

Eine Lebereisenmessung erfolgte bei 29% (8 von 28) der Patienten. Bei 11% (3 von 28) wurde ein Ferriscan, bei 11% (3 von 28) ein SQUID und bei 7% (2 von 28) eine Eisenmessung mittels T2*MRI durchgeführt. 88% (7 von 8) dieser Patienten wurden mittels Chelat-Therapie behandelt.

In der Tabelle 8 werden die Lebereisenmessungen der Patienten im Vergleich zu deren durchschnittlichen Ferritinwerten präsentiert. 3 Patienten erfüllten mittels Lebereisenmessung die Kriterien für eine Eisenüberladung (PKD19, PKD12 und PKD11). Von diesen Patienten hatte nur einer einen Ferritinwert >1000 ng/ml. Alle 3 Patienten hatten einen Ferritinwert >500 ng/ml.

Tabelle 8: Ferritinwert bei Patienten mit PK-Mangel im Vergleich zur Lebereisenmessung

| Patient-ID | Ferritin (ng/ml) | Lebereisen | Methode |
|------------|------------------|----------------------------|-----------|
| PKD26 | 684 | 3,1 mg/g _{d.w} | Ferriscan |
| PKD24 | 671 | 1,9 mg/g _{d.w} | Ferriscan |
| PKD2 | 581 | 3,3 mg/g _{d.w} | Ferriscan |
| PKD19 | 1149 | 1,91 mg/g _{liver} | SQUID |
| PKD12 | 962 | 1,4 mg/g _{liver} | SQUID |
| PKD21 | 579 | 0,53 mg/g _{liver} | SQUID |
| PKD17 | 1337 | 2,58 mg/g _{d.w} | T2* MRI |
| PKD11 | 979 | 14,5 mg/g _{d.w} | T2* MRI |

Eine Herzeisenmessung wurde bei keinem der Patienten dieser Studie durchgeführt.

4.9. Chelat-Therapie

In der Tabelle 9 werden alle Patienten, die eine Chelat-Therapie erhalten zusammengefasst.

Tabelle 9: Chelat-Therapie im Vergleich zum Ferritinwert, Hämoglobinwert und molekulargenetischen Befunde bei Patienten mit PK-Mangel

| Patienten-ID | Molekulargenetik | Hb vor Transfusion der letzten 5 Jahre (g/dl) | Chelat-Therapie | Ferritin bei Einschluss / Beginn des Chelators (ng/ml) |
|--------------|---|---|-----------------|--|
| PKD22 | homo.c.1529G>A;p.Arg510Gln | 10,4 | Deferoxamin | 4136 |
| PKD11 | homo.c.994G>A; p.Gly332Ser | 7,8 | Deferasirox | 853 |
| PKD28 | homo.c.994G>A; p.Gly332Ser | 7,8 | Deferasirox | 1783 |
| PKD7 | c.1529G>A;p.Arg510Gln, c.401T>A;p.Val134Asp | 6,7 | Deferasirox | 790 |
| PKD26 | c.119delG;p.Arg41GlyfsTer7, c.841G>A;p.Asp281Asn | 7 | Deferasirox | 780 |
| PKD17 | homo.c.410C>T; p.Ala137Val | 7 | Deferasirox | 1318 |
| PKD19 | c.401T>A; p.Val134Asp, IVS4-2a>c(c.376-2a>c) | 10,1 | Deferasirox | 1149 |
| PKD5 | c.823G>A;p.Gly275Arg, c.1594C>T; p.Arg532Trp | 5,9 | Deferasirox | 839 |
| PKD24 | c.1529G>A;p.Arg510Gln, c. 977T>A; p.Ile326Asn | 7,1 | Deferasirox | 476 |
| PKD12 | c.1351_1356dupCCCACT;p.Thr452_ Glu453InsProThr, c.1373G>A;p.Gly458Asp | 6,9 | Deferasirox | 846 |
| PKD23 | c.1456C>T;p.Arg486Trp, c.1097C>T;p.Pro366Leu | 12 | Deferoxamin | Nicht bekannt |
| PKD20 | homo.c.460G>A | 6,5 | Deferasirox | 723 |
| PKD21 | c.1529G>A;p.Arg510Gln, c.1495T>C | 7,3 | Deferasirox | 1417 |

Es standen Daten zur Chelat-Therapie bei allen unseren Patienten mit PK-Mangel (28 von 28) zur Verfügung. 36% der Patienten (10 von 28) hatten in den letzten 12 Monaten vor dem Einschluss eine Chelat-Therapie erhalten. Im Laufe der Beobachtungszeit von 2 Jahren wurde noch bei 11% (3 von 28) der Patienten eine Chelat-Therapie eingeleitet, so dass insgesamt 47% der Patienten eine Chelat-Therapie erhielten. 85% der Patienten (11 von 13) wurden mit Deferasirox und 15% (2 von 13) mit Deferoxamin behandelt. Bei fallenden Ferritinwerten konnte bei 2 Patienten im Laufe der Studie die Chelat-Therapie beendet werden. 91% (10 von 11) der Patienten, die eine Chelat-Therapie erhalten, sind chronisch transfusionspflichtig und 72% (8 von 11) haben eine schwere Anämie (Hb <8 g/dl). Bei 9% (1 von 11) der Patienten unter Chelat-Therapie besteht keine Transfusionspflichtigkeit.

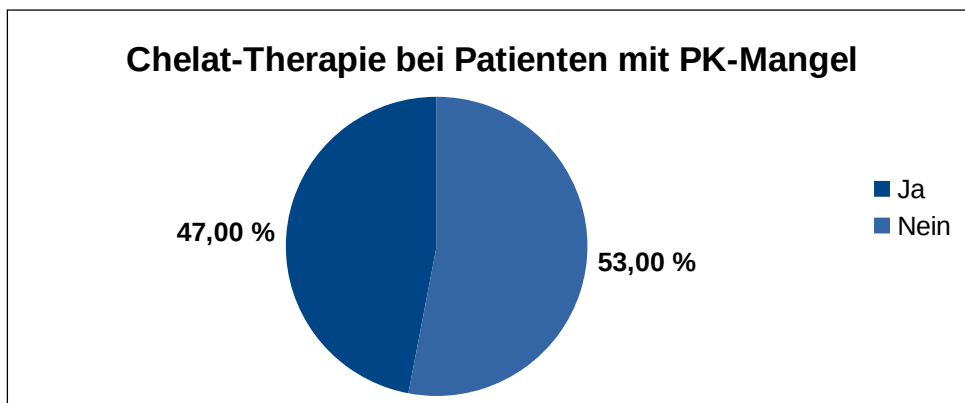


Abbildung 23: Chelat-Therapie bei Patienten mit PK-Mangel

4.10 Aktuelle Medikation der Patienten

Die Einnahme von Medikamenten bei PK-Mangel (außer Chelat-Therapie) erfolgt symptomatisch, da zurzeit keine zugelassene kausale Therapie der Erkrankung zur Verfügung steht. Die aktuelle Medikation der in der Studie teilnehmenden Patienten wird in der Tabelle 10 im Detail beschrieben.

Tabelle 10: Medikation der Patienten mit PK-Mangel zum Zeitpunkt des Einschlusses (außer Chelat-Therapie)

| Medikation | Patientenanteil |
|--|-----------------|
| Folsäure | 36% (10 von 28) |
| Antibiotische Prophylaxe nach Splenektomie | 33% (4 von 12) |
| Antikoagulation | 7% (2 von 28) |
| Antidepressiva | 4% (1 von 28) |
| Keine Medikation | 54% (15 von 28) |

54% (15 von 28) der Patienten erhielten zum Zeitpunkt des Einschlusses keine Medikation. Eine Therapie mit Folsäure erhielten 36% (10 von 28) und eine antibiotische Prophylaxe nach

Splenektomie 14% der Patienten. 7% (2 von 28) wurden mit Antikoagulanzen und 4% (1 von 28) mit Antidepressiva behandelt.

4.11. Splenektomie

Bis zum Zeitpunkt des Einschlusses wurde bei 29% (8 von 28) der Patienten eine Splenektomie durchgeführt. Im Laufe der Beobachtungszeit der Patienten wurden noch 14% (4 von 28) der Patienten splenektomiert, so dass der Anteil der Patienten mit Splenektomie insgesamt 43% (12 von 28) beträgt.

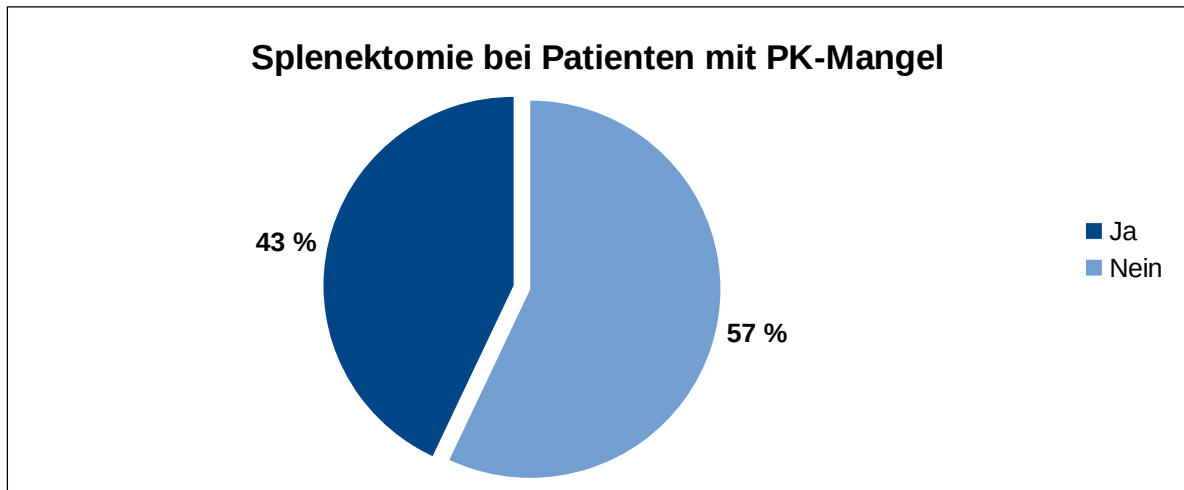


Abbildung 24: Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel

In der Abbildung 25 wird das durchschnittliche Alter der Patienten bei Splenektomie präsentiert. 75 % (9 von 12) der Patienten waren zum Zeitpunkt der Splenektomie jünger als 10 Jahre. Bei 17 % (2 von 12) der Patienten wurde eine Splenektomie im Alter von 10-20 Jahren und bei 8% (1 von 12) im Alter von >20 Jahren durchgeführt. Der jüngste Patient hatte eine Splenektomie im Alter von 1 Jahr und der älteste Patient war 38 Jahre. Das durchschnittliche Alter bei der Splenektomie betrug 9,7 Jahre.

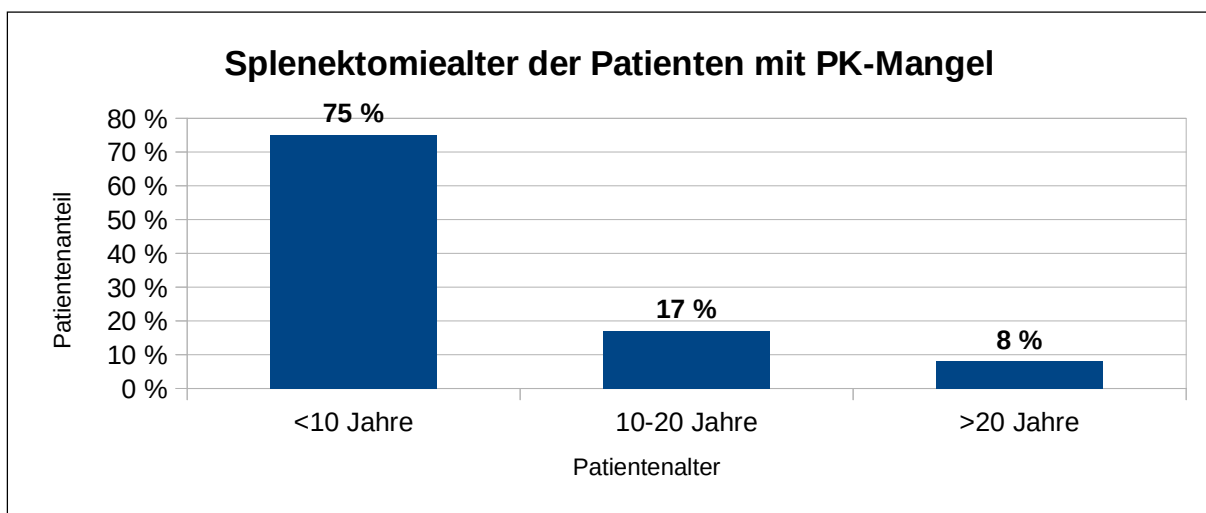


Abbildung 25: Alter bei Splenektomie der Patienten mit PK-Mangel

Eine Splenektomie kann total oder partiell durchgeführt werden. 58% der Patienten (7 von 12) hatten eine totale Splenektomie und 25 % (3 von 12) eine partielle Splenektomie. Bei 17% (2 von 12) dieser Patienten ist die operative Methode nicht bekannt.

4.12. Indikationen für eine Splenektomie

Bei 83% (10 von 12) der Patienten waren die schwere Anämie und bei 92% (11 von 12) die chronische Transfusionspflichtigkeit mit kurzen Abständen (≥ 6 Transfusionen pro Jahr) die Indikationen für die Splenektomie. Bei 25% (3 von 12) der Patienten war der Ikterus ein Grund für die Splenektomie, während bei 33% (4 von 12) die Hoffnung nach Verbesserung der Lebensqualität eine der Hauptursachen war. Bei 8% (1 von 12) der Patienten waren die Indikationen für die Splenektomie nicht bekannt.

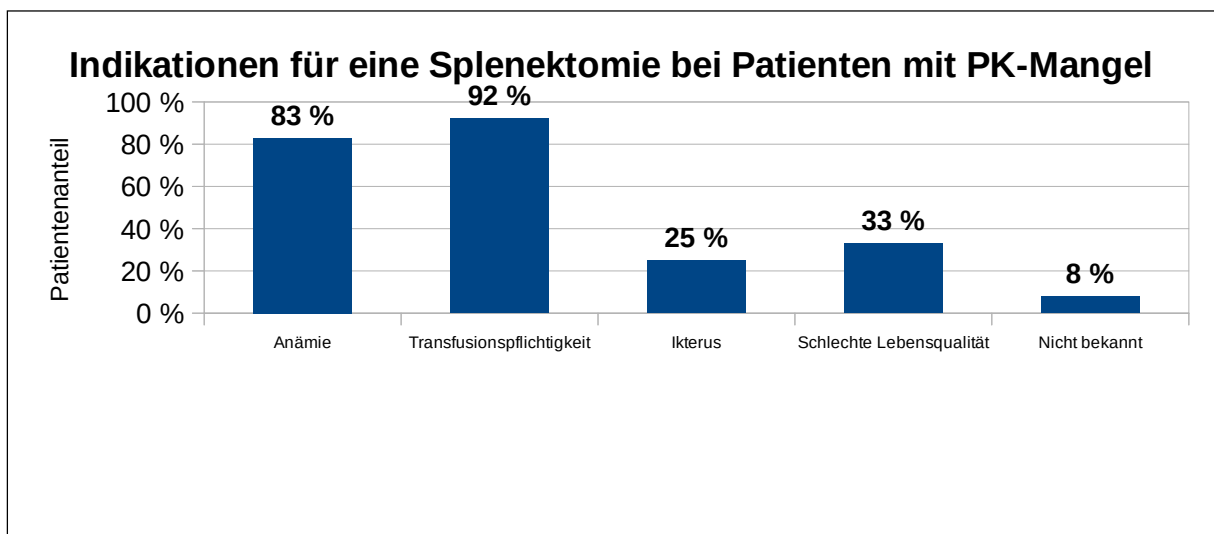


Abbildung 26: Indikationen für eine Splenektomie bei PK-Mangel

4.13. Therapeutisches Outcome der Splenektomie

Nach der Splenektomie ist es bei 75% (9 von 12) der Patienten zu einer Abnahme der Transfusionshäufigkeit und zu einem Anstieg des durchschnittlichen Hämoglobinwerts gekommen. Der durchschnittliche Hämoglobinanstieg nach der Splenektomie war 1,7 g/dl. Bei 17% (2 von 12 Patienten) hat die Splenektomie weder zu einem Anstieg des durchschnittlichen Hämoglobinwerts, noch zu einer Verlängerung des Transfusionsintervalls geführt. Bei 8% (1 von 12) der Patienten sind die klinischen Folgen der Splenektomie nicht bekannt.

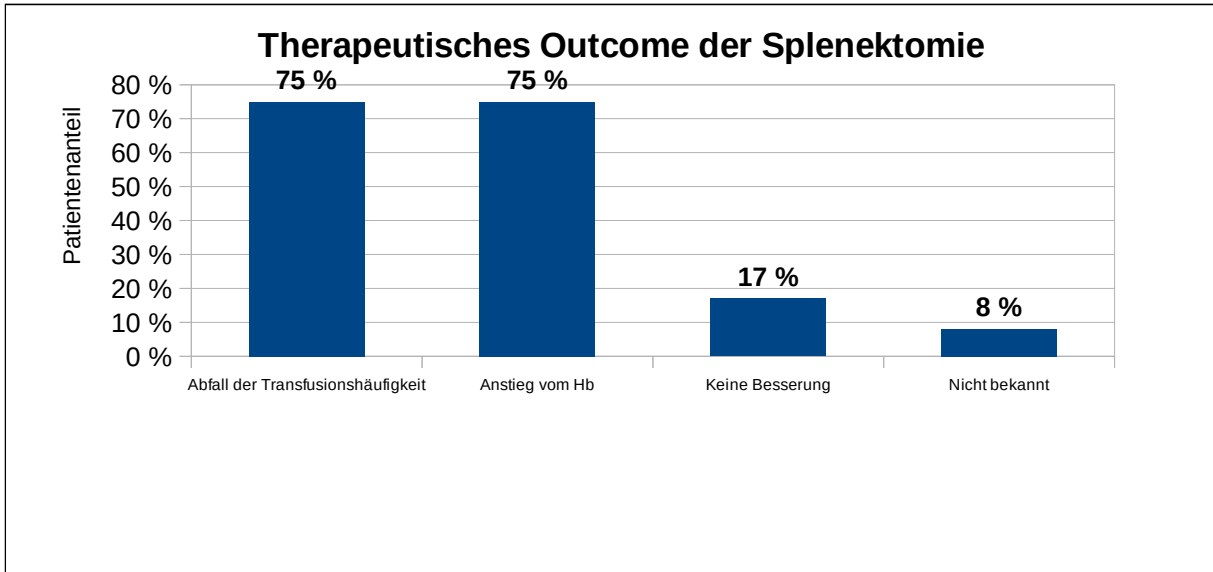


Abbildung 27: Therapeutisches Outcome der Splenektomie bei PK-Mangel

4.14. Komplikationen nach Splenektomie

Die häufigsten Komplikationen nach Splenektomie sind schwere bakterielle Infektionen (OPSI Syndrom) und Thrombosen. Bei Studieneinschluss wurde bei keinem Patienten eine schwere bakterielle Infektion nach Splenektomie beschrieben. Ebenso wurde im Laufe der Beobachtungszeit von 2 Jahren bei keinem Patient nach Splenektomie ein OPSI Syndrom beobachtet. Bei 17 % (2 von 12) der Patienten wurde in der Anamnese eine Thrombose nach Splenektomie beschrieben. Im Laufe der 2 Beobachtungsjahre wurden keine weiteren Thrombosefälle nach Splenektomie registriert.

4.15. Cholezystolithiasis

Im Rahmen der Hämolyse kann es zur Bildung von Bilirubinsteinen kommen. Bei Einschluss in unserer Studie hatten 36% der Patienten (10 von 28) Gallensteine in der Anamnese. Im Laufe der Beobachtungszeit von 2 Jahren entwickelten noch 7 % der Patienten Gallensteine.

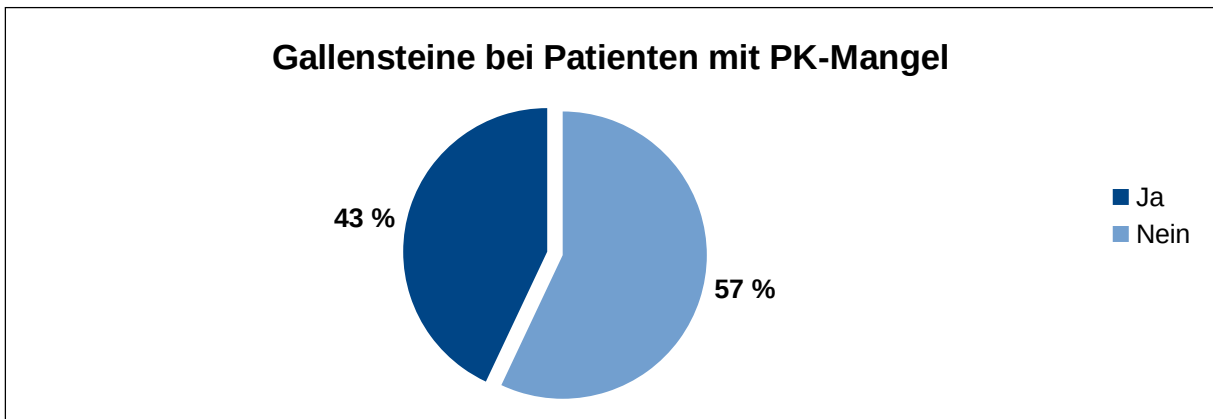


Abbildung 28: Gallensteine bei Patienten mit PK-Mangel

4.16. Cholezystektomie

Es lagen Daten zur Durchführung einer Cholezystektomie bei allen Patienten vor. Insgesamt hatten bei Einschluss schon 25% (7 von 28) der Patienten eine Cholezystektomie. Im Laufe der Beobachtungszeit wurde bei noch 7% der Patienten eine Cholezystektomie durchgeführt, so dass bei insgesamt 32% (9 von 28) der Patienten eine Cholezystektomie nötig war.

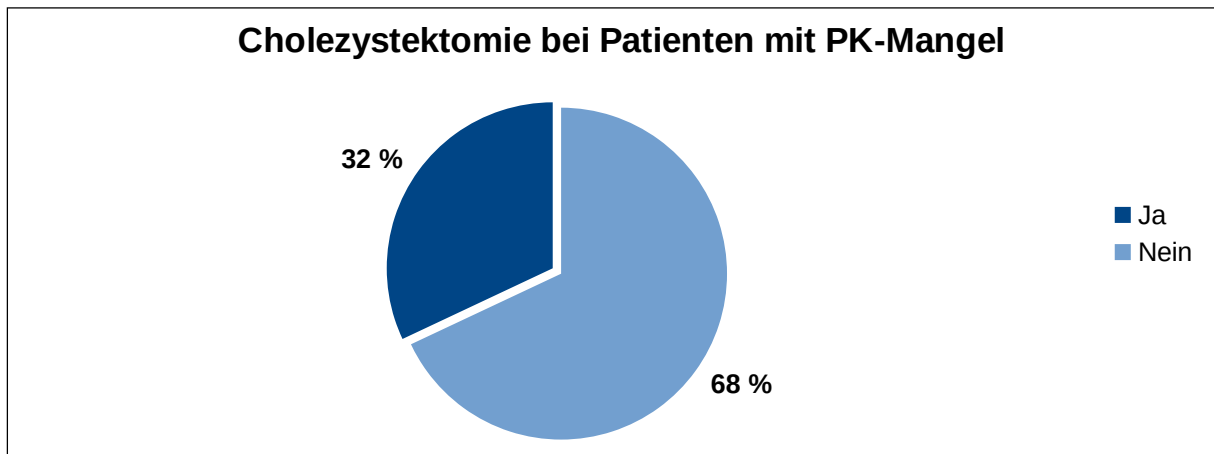


Abbildung 29: Cholezystektomie bei Patienten mit PK-Mangel

78% der Patienten (7 von 9) waren zum Zeitpunkt der Cholezystektomie jünger als 20 Jahre. Das mittlere Alter bei Cholezystektomie betrug 17,2 Jahre (Streubreite 5-47 Jahre).

4.17. Biochemische Diagnostik des PK-Mangels

Die Bestimmung der Restenzymaktivität der Pyruvatkinase der Erythrozyten (PK-R) ist der Goldstandard für die Diagnose des PK-Mangels. Es lagen Daten zu der Restenzymaktivität der PK-R bei 79% (22 von 28) der Patienten vor. Die Restenzymaktivitäten der PK-R wurden von verschiedenen Erythrozytenlaboren deutschlandweit bestimmt. Der Referenzbereich unterscheidet sich vom Labor zu Labor. Bei manchen Patienten handelt es sich um alte Befunde aus Laboren, die nicht mehr existieren. Zudem wurde nicht immer der absolute Wert der Restenzymaktivität in U/g Hämoglobin in dem Befund festgelegt, sondern gab es auch Befunde, wo nur die prozentuale Restenzymaktivität beschrieben wird.

Um die Ergebnisse einheitlich darstellen zu können wurde die Restenzymaktivität der PK-R in dieser Arbeit prozentual angegeben. Als Normalaktivität (100%) galt in dieser Arbeit der unterste Normwert des vom jeweiligen Labor angegebenen Referenzbereichs. In der Abbildung 30 wird die prozentuale Restenzymaktivität der Pyruvatkinase der Erythrozyten im Vergleich zur Normalaktivität (100%) bei Diagnosestellung dargestellt.

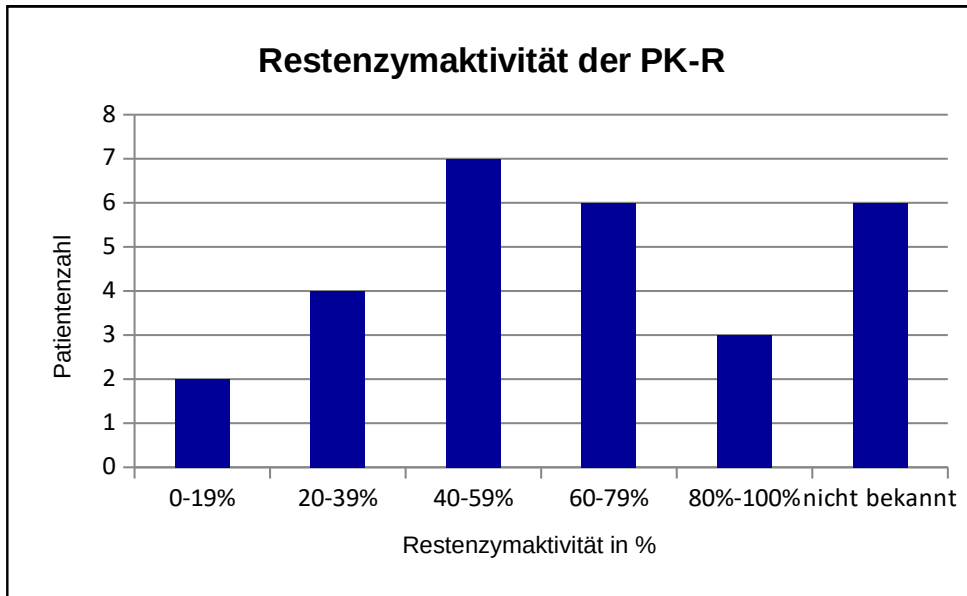


Abbildung 30: Prozentuale Restenzymaktivität im Vergleich zum Normwert der Pyruvatkinase der Erythrozyten (PK-R)

25% (7 von 28) der Patienten hatten bei Diagnosestellung eine Restenzymaktivität zwischen 40% und 59%. 21 % (6 von 28) der Patienten hatten eine Restenzymaktivität zwischen 60% und 79%. Eine Restenzymaktivität unter 19 % hatten 7% (2 von 28) der Patienten und eine zwischen 20% und 39% hatten 14% (4 von 28) der Patienten. Der Mittelwert der Restenzymaktivität bei den Patienten mit PK-Mangel mit einem auffälligen Befund war 49% im Vergleich zum Normwert.

Eine normale- oder nahezu normale Restaktivität (>80%) bestand bei 11% (3 von 28) der Patienten. Bei 18% der Patienten (5 von 28) war die Restenzymaktivität nicht bekannt. Bei 4% (1 von 28) der Patienten wurde bei der Bestimmung der Restenzymaktivität kein Normbereich vom Labor festgelegt, so dass keine Schlussfolgerung möglich war.

In dieser Arbeit wird der Schweregrad der Anämie der Patienten mit PK-Mangel mit der prozentualen Restenzymaktivität der PK-R verglichen, um festzustellen, ob eine schwere Anämie (Hb <8 g/dl) mit einer eindeutig erniedrigten Restenzymaktivität der PK-R korreliert. In dieser Arbeit haben 57 % (16 von 28) der Patienten eine schwere Anämie (Hämoglobinwert <8 g/dl). Nur 31% (5 von 16) dieser Patienten haben eine Restenzymaktivität der PK-R \leq 50%. 44% (7 von 16) haben eine Restenzymaktivität >50 % und bei 25% (4 von 16) ist die Restenzymaktivität nicht bekannt (Tabelle 11).

Tabelle 11: Prozentuelle Restenzymaktivität der PK-R bei Patienten mit PK-Mangel und schwere Anämie (<8 g/dl)

| Patienten mit einem PK-Mangel und schwere Anämie (Hb<8 g/dl) | Patientenanteil in % |
|--|----------------------|
| Restenzymaktivität der PK-R ≤ 50% | 31% |
| Restenzymaktivität der PK-R >50% | 44% |
| Nicht bekannt | 25% |

Interessant ist auch zu wissen, ob eine deutlich erniedrigte Restenzymaktivität der PK-R (Restenzymaktivität < 50% des Normwerts) einen prognostischen Faktor für die Entwicklung einer schweren Anämie darstellt oder nicht. In der Tabelle 12 werden alle Patienten mit einer PK-R <50% präsentiert (9 Patienten). Nur 44% (4 von 9) dieser Patienten haben eine schwere Anämie (Hb < 8 g/dl). Überraschenderweise haben 56% (5 von 9) dieser Patienten eine milde Anämie (Hb >10 g/dl).

Tabelle 12: Schweregrad der Anämie bei Patienten mit PK-Mangel und einer niedrigen Restenzymaktivität der PK-R

| PK-R < 50% des Normwerts | Patientenanteil in % |
|--|----------------------|
| Schwere Anämie (Hb <8 g/dl) | 44% |
| Moderate Anämie (Hb 8-10 g/dl) | 0% |
| Milde Anämie (Hb >10 g/dl und <12 g/dl) | 56% |

Die Patienten in unserer Arbeit, die eine normale (>80%) Restaktivität der PK-R hatten, waren alle chronisch transfusionspflichtig.

4.18. Molekulargenetische Befunde der Patienten

Bei Einschluss der Patienten in die PKD Natural History Study wurde bei allen Patienten mit biochemischem oder klinischen Verdacht auf PK-Mangel der molekulargenetische Nachweis der Erkrankung angestrebt. Bei den Patienten, bei denen bisher keine molekulargenetische Diagnostik durchgeführt wurde, wurde im Rahmen der PKD Natural History Study eine Blutprobe von 5 ml EDTA Blut ins Forschungslabor Dr. Paola Bianchi/ Dr. Elisa Fermo nach Mailand (Referenzlabor) versandt.

In der Tabelle 13 werden die bei unseren Patienten nachgewiesenen Mutationen im PKLR Gen zusammengefasst. Bei jedem Patienten wurde der biochemische Befund der Pyruvatkinaseaktivität zum Vergleich hinzugefügt.

Tabelle 13: Molekulargenetische Veränderungen im PKLR Gen im Vergleich zur Restenzymaktivität

| Patienten ID | Geschlecht | cDNA Nukleotid Substitution | Aminosäuren Substitution | Restenzymaktivität |
|--------------|------------|---|--|--------------------|
| PKD1 | W | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | 13% |
| PKD2 | M | c.721G>T und c.1594C>T | p.Glu241 X und p.Arg532Trp | 19% |
| PKD3 | W | c.721G>T und c.993C>A | p.Glu241 X und p.Asp331Glu | 20% |
| PKD4 | M | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | 34% |
| PKD5 | M | c.823G>A und c.1594C>T | p.Gly275Arg und p.Arg532Trp | 34% |
| PKD6 | M | c.665G>A und c.1456C>T | p.Gly222Glu und p.Arg486Trp | 39% |
| PKD7 | M | c.1529G>A und c.401T>A | p.Arg510Gln und p.Val134Asp | 40% |
| PKD8 | M | c.1529G>A und c.1594C>T | p.Arg510Gln und p.Arg532Trp | 40% |
| PKD9 | M | c.665G>A und c.1456C>T | p.Gly222Glu und p.Arg486Trp | 48% |
| PKD10 | M | c.721G>T und c.993C>A | p.Glu241 X und p.Asp331Glu | 50% |
| PKD11 | W | homo.c.994G>A | p.Gly332Ser | 50% |
| PKD12 | M | c.1373G>A und c.1351-1356dupCCCACT | p.Gly458Asp und p.Thr452_Glu453InsProThr | 53% |
| PKD13 | M | c.1219G>A und c.993C>A | p.Glu407Lys und p.Asp331Glu | 57% |
| PKD14 | W | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | 63% |
| PKD15 | W | IVS8-9 (g.12041) A>G (Substitution im Intron-Folge beim | | 68% |

| | | mRNA Splicing) | | |
|-------|---|--|-------------------------------------|----------------------------------|
| PKD16 | M | c.460G>A und c.1529G>A | p.Ala154Thr und p.Arg510Trp | 70% |
| PKD17 | W | homo.c.410C>T | p.Ala137Val | 78% |
| PKD18 | W | c.1456C>T und c.1147G>A | p.Arg486Trp und p.Ala392Thr | 78% |
| PKD19 | W | c.401T>A und IVS4- 2a>c(c.376-2a>c) | p.Val134Asp | 79% |
| PKD20 | M | homo.c.460G>A | p.Ala154Thr | Im Normbereich |
| PKD21 | M | c.1529G>A und c.1495T>C | p.Arg510Gln und p.Ser499Pro | Im Normbereich |
| PKD22 | W | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | Im Normbereich |
| PKD23 | M | c.1456C>T und c.1097C>T | p.Arg486Trp und p.Pro366Leu | Kein Normbereich angegeben |
| PKD24 | W | c.1529G>A und c. 977T>A | p.Arg510Gln und p.Ile326Asn | Nicht bekannt |
| PKD25 | W | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | Nicht bekannt |
| PKD26 | M | c.119delG und c.841G>A | p.Arg41GlyfsTer7 und p.Asp281Asn | Nicht bekannt |
| PKD27 | M | homo.c.1529G>A | p.Arg510Gln | Nicht bekannt |
| PKD28 | M | homo.c.994G>A | p.Gly332Ser | Nicht bekannt |

Zusammenfassend waren 39 % (11 von 28) der Patienten homozygot und 61% (17 von 28) compound heterozygot für Mutationen im PKLR Gen.

Es wurden 23 verschiedene Mutationen nachgewiesen. Die meisten Mutationen waren Missense Mutationen (19 von 23). 2 Patienten hatten eine Mutation im Intronbereich, die das mRNA Spleißen beeinflusst, 1 Patient hatte eine Nonsense Mutation, 1 Patient hatte eine Duplikation und 1 Patient eine Deletion.

Die häufigste Mutation bei unseren Patienten war die Missense Mutation c. 1529 G>A, die bei 6 Patienten im homozygoten und bei 5 Patienten im compound heterozygoten Status zu finden war. Die zweithäufigste Mutation war 1456 C>T, die bei 4 Patienten im compound heterozygoten Status nachgewiesen wurde.

Die Mutationen c.721 G>T, c.993 C>A und c.1594 C>T wurden jeweils bei 3 Patienten im compound heterozygoten Status nachgewiesen. In der Tabelle 14 werden die häufigsten Mutationen des PKLR Gens bei den Patienten mit PK-Mangel in unserer Arbeit aufgelistet.

Tabelle 14: Häufigste Mutationen im PKLR Gen bei Patienten mit PK-Mangel

| Häufigste Mutationen des PKLR Gens bei 28 Patienten mit PK-Mangel | Patientenanteil in % |
|---|----------------------|
| c.1529 G>A | 39% (11 von 28) |
| c.1456 C>T | 14% (4 von 28) |
| c.721 G>T | 11% (3 von 28) |
| c.993 C>A | 11% (3 von 28) |
| c.1594 C>T | 11% (3 von 28) |
| c.994 G>A | 7% (2 von 28) |

4.19. Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp

Die Patienten wurden in dieser Arbeit in 3 klinische Phänotypen unterteilt:

1. Schwere Erkrankung (chronisch transfusionspflichtiger Patient vor Splenektomie oder/ und schwere Anämie und /oder Eisenüberladung, meistens Neugeborenenikterus, oft mit Notwendigkeit von Austauschtransfusionen)
2. Moderate Erkrankung (Transfusion nur bei Vorhandensein von akuten hämolytischen Triggerfaktoren / Hochrisiko Situationen und/oder moderate bis schwere Anämie, selten Splenektomie nötig, Neugeborenenikterus möglich, keine Austauschtransfusionen nötig, oft schwerer Verlauf in Neugeborenen- und Säuglingszeit)
3. Milde Erkrankung (selten oder keine Transfusionen, milde Anämie, keine Splenektomie nötig, Neugeborenenikterus möglich, keine Austauschtransfusionen nötig).

Nach der oben genannten Definition hatten 61% (17 von 28) der Patienten in dieser Arbeit einen schweren-, 21% (6 von 28) einen moderaten- und 18% (5 von 28) einen milden PK-Mangel.

In der Tabelle 15 werden die klinischen und molekulargenetischen Daten der 17 Patienten mit einem schweren Phänotyp zusammengefasst. Bei 94% der Patienten (16 von 17) mit einem schweren PK-Mangel wurde die Erkrankung im Kindesalter diagnostiziert.



Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung war bei diesen Patienten 2 Jahre. Bei 50% (8 von 16) dieser Patienten wurde die Diagnose sogar im Säuglingsalter gestellt. 71% (12 von 17) dieser Patienten hatten eine Splenektomie, was ein deutlich höherer Anteil im Vergleich zu der Gesamtzahl der Patienten ist (43% aller Patienten in dieser Arbeit hatten eine Splenektomie). 88% der Patienten (15 von 17) mit einem schweren PK-Mangel hatten einen Ikterus neonatorum und 41% (7 von 17) benötigten eine Austauschtransfusion. 88% (15 von 17) hatten eine schwere Anämie ($Hb < 8 \text{ g/dl}$) mit einem durchschnittlichen Hb von $6,7 \text{ g/dl}$ (bei den splenektomierten Patienten wird der mittlere Hämoglobinwert vor Splenektomie berechnet).

Tabelle 15: Patienten mit PK-Mangel und einen schweren Phänotyp

| Patienten-ID | Molekulargenetik und Restenzymaktivität (PK-R) | Ikterus neonatorum | Mittlerer Hb (bei splenektomierten Patienten vor Splenektomie) (g/dl) | Splenektomie |
|--------------|---|----------------------------|---|--------------|
| PKD2 | c.721 G>T;p.Glu241X, c.1594 C>T; p.Arg532Trp, PK-R: 19% | Ja Austauschtransfusion | 6,8 | Ja |
| PKD5 | c.823 G>A;p.Gly275Arg, c.1594 C>T; p.Arg532Trp, PK-R: 34% | Ja | 5,8 | Ja |
| PKD7 | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.401 T>A;p.Val134Asp, PK-R: 40% | Ja Austauschtransfusion | 5,6 | Ja |
| PKD8 | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.1594 C>T;p.Arg532Trp, PK-R: 40% | Ja Austauschtransfusion | 6,6 | Ja |
| PKD11 | homo.c.994 G>A; p.Gly332Ser, PK-R: 50% | Ja | 6,5 | Ja |
| PKD12 | c.1351_1356 dupCCCACT;p.Thr452_Glu453InsProThr, c.1373 G>A;p.Gly458Asp, PK-R: 53% | Ja Austauschtransfusion | 6,9 | Nein |
| PKD16 | c.460 G>A;p.Ala154Thr, c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: 70% | Ja Austauschtransfusion | 6,3 | Ja |
| PKD17 | homo.c.410 C>T; p.Ala137Val, PK-R: 78% | Nein | 6,2 | Ja |
| PKD18 | c.1456 C>T;p.Arg486Trp, c.1147 G>A;p.Ala392Thr, PK-R: 78% | Ja Austauschtransfusion | 6 | Ja |
| PKD19 | c.401 T>A; p.Val134Asp, IVS4-2a>c(c.376-2a>c), PK-R: 79% | Ja Austauschtransfusion | 10,1 | Nein |
| PKD20 | homo.c.460 G>A;p.Ala154Thr, PK-R: normal | Ja | 6,5 | Nein |
| PKD21 | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.1495 T>C;p.Ser499Pro, PK-R: normal | Ja | 7,3 | Nein |
| PKD22 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: normal | Nicht bekannt | Nicht bekannt | Ja |
| PKD24 | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.977 T>A; p.Ile326Asn, PK-R: nicht bekannt | Ja Austauschtransfusion | 7,1 | Ja |
| PKD25 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: nicht bekannt | Ja | 5,9 | Nein |
| PKD26 | c.119 delG;p.Arg41GlyfsTer7, c.841 | Ja | 6,2 | Ja |

| | | | | |
|-------|--|----------------------|-----|----|
| | G>A;p.Asp281Asn, PK-R: nicht bekannt | Austauschtransfusion | | |
| PKD28 | homo.c.994 G>A; p.Gly332Ser, PK-R: nicht bekannt | Ja | 7,1 | Ja |

Die häufigste Mutation bei Patienten mit einem schweren Phänotyp in dieser Arbeit war c.1529 G>A (41 % der Patienten mit schwerem Phänotyp). 2 Patienten waren homozygot für diese Mutation und 5 Patienten waren compound heterozygot. Die zweithäufigste Mutation war die Mutation c.1594 C>T. 3 Patienten waren compound heterozygot für die Missense Mutation c.1594 C>T. 2 Patienten mit einem schweren Phänotyp waren homozygot für die Missense Mutation c.994 G>A (Geschwister) und 2 compound heterozygot für die Missense Mutation c.401 T>A.

In der Tabelle 16 werden die klinischen und molekulargenetischen Daten der 6 Patienten mit einem moderaten Phänotyp zusammengefasst. Die Patienten mit einem moderaten PK-Mangel hatten in der Neugeborenen- und Säuglingszeit alle einen schweren Verlauf der Erkrankung mit der Notwendigkeit von Transfusionen. Im Verlauf und bis zum Einschluss in diese Studie benötigten sie keine Transfusionen mehr.

Tabelle 16: Patienten mit PK-Mangel und einen moderaten Phänotyp

| Patienten-ID | Molekulargenetik und Restenzymaktivität (PK-R) | Ikterus neonatorum | Mittlerer Hb (bei Transfusionen vor Transfusion) der letzten 5 Jahre (g/dl) | Splenektomie |
|--------------|--|----------------------------|---|--------------|
| PKD1 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: 13% | Ja | 10,1 | Nein |
| PKD3 | c.721 G>T;p.Glu241X, c.993 C>A;p.Asp331Glu, PK-R: 20% | Ja | 12 | Nein |
| PKD10 | c.721 G>T;p.Glu241X, c.993 C>A;p.Asp331Glu, PK-R: 50% | Ja | 11,9 | Nein |
| PKD13 | c.993 C>A; p.Asp331Glu, c.1219 G>A; p.Glu407Lys, PK-R: 57% | Nein | 7,8 | Nein |
| PKD14 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: 63% | Nein | 7,7 | Nein |
| PKD27 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R: nicht bekannt | Ja Austauschtransfusion | 8,1 | Nein |

Alle Patienten mit einem moderaten PK-Mangel in dieser Arbeit (Transfusionen nur in der Neugeborenenperiode oder bei akuten hämolytischen Triggerfaktoren) wurden im Kindesalter

diagnostiziert. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung war 2,5 Jahre. Das durchschnittliche Alter bei Einschluss war 13 Jahre. 66% (4 von 6) dieser Patienten hatten einen Ikterus neonatorum und keiner dieser Patienten benötigte eine Splenektomie, weder zum Zeitpunkt des Einschlusses noch in unserer Beobachtungszeit von 2 Jahren. 50% (3 von 6) dieser Patienten hatten eine milde Anämie (Hb >10 g/dl), 17% (1 von 6) eine moderate Anämie (Hb 8-10 g/dl) und 33% (2 von 6) eine schwere Anämie (Hb < 8 g/dl). Der durchschnittliche Hämoglobinwert bei allen Patienten dieser Gruppe war 9,6 g/dl. 50% (3 von 6) dieser Patienten waren homozygot für die häufigste Mutation c.1529 G>A und 50% (3 von 6) compound heterozygot für die Mutation c.993 C>A. Die Patienten PKD3 und PKD10 (Tabelle 16) waren Geschwister und hatten den gleichen Genotyp und den gleichen Phänotyp.

In der Tabelle 17 werden die klinischen und molekulargenetischen Daten der 5 Patienten mit einem milden Phänotyp zusammengefasst.

Tabelle 17: Patienten mit PK-Mangel und einen milden Phänotyp

| Patienten-ID | Molekulargenetik und Restenzymaktivität (PK-R) | Ikterus neonatorum | Hb der letzten 5 Jahre (g/dl) | Splenektomie |
|--------------|---|--------------------|-------------------------------|--------------|
| PKD4 | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln, PK-R:34% | Nein | 11,2 | Nein |
| PKD6 | c.665 G>A;p.Gly222Glu, c.1456 C>T;p.Arg486Trp, PK-R: 39% | Ja | 11,8 | Nein |
| PKD9 | c.665 G>A;p.Gly222Glu,c.1456 C>T; p.Arg486Trp, PK-R: 48% | Nein | 11,5 | Nein |
| PKD15 | IVS8-9 (g.12041) A>G, PK-R:68% | Ja | 9 | Nein |
| PKD23 | c.1456 C>T;p.Arg486Trp, c.1097 C>T;p.Pro366Leu, PK-R: nicht bekannt | Nein | 12 | Nein |

80% (4 von 5) der Patienten mit einem milden PK-Mangel in unserer Studie wurden im Kindesalter diagnostiziert. Das durchschnittliche Alter dieser Patienten bei Diagnosestellung war 14 Jahre. 40% (2 von 5) der Patienten in dieser Gruppe hatten einen Ikterus neonatorum und keiner der Patienten benötigte eine Splenektomie. 80% (4 von 5) dieser Patienten hatten eine milde Anämie (Hb >10 g/dl und ≤ 12 g/dl) und 20% (1 von 5) eine moderate Anämie (Hb 8-10 g/dl). Die häufigste Mutation in dieser Patientengruppe war die Missense Mutation c.1456 C>T (Patienten PKD6, PKD9 und PKD23, Tabelle 17). Diese Patienten waren compound heterozygot, hatten eine milde Anämie und benötigten keine Transfusionen.

In dieser Arbeit konnten 19 verschiedene Missense und 4 verschiedene Non-Missense Mutationen nachgewiesen werden.

75% der Patienten (21 von 28) in dieser Arbeit hatten 2 Missense Mutationen, 21% (6 von 28) eine Missense und eine Non-Missense Mutation und 4% (1 von 28) 2 Non-Missense

Mutationen. In der Tabelle 18 werden alle Patienten mit 2 Missense Mutationen (Missense/Missense) zusammengefasst.

62% (13 von 21) der Patienten mit 2 Missense Mutationen hatten einen Ikterus neonatorum, während 29% (6 von 21) keinen Ikterus hatten. Bei 48% (10 von 21) der Patienten in dieser Gruppe musste eine Splenektomie durchgeführt werden. Der durchschnittliche Hämoglobinwert in den letzten 5 Jahren vor Einschluss in unserer Studie war bei diesen Patienten 8,4 g/dl.

Tabelle 18: Klinische Charakteristika der Patienten mit PK-Mangel und Missense/ Missense Genotyp

| Patienten-ID und Phänotyp | Molekulargenetik | Ikterus neonatorum | Hb der letzten 5 Jahre (g/dl) | Splenektomie |
|---------------------------|---|--------------------|-------------------------------|--------------|
| PKD1, moderat | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln | Ja | 10,1 | Nein |
| PKD4, mild | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln | Nein | 11,2 | Nein |
| PKD5, schwer | c.823 G>A;p.Gly275Arg, c.1594 C>T; p.Arg532Trp | Ja | 5,9 | Ja |
| PKD6, mild | c.665 G>A;p.Gly222Glu, c.1456 C>T;p.Arg486Trp | Ja | 11,8 | Nein |
| PKD7, schwer | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.401 T>A;p.Val134Asp | Ja | 6,7 | Ja |
| PKD8, schwer | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.1594 C>T;p.Arg532Trp | Ja | 6,6 | Ja |
| PKD9, mild | c.665 G>A;p.Gly222Glu, c.1456 C>T; p.Arg486Trp | Nein | 11,5 | Nein |
| PKD11,schwer | homo.c.994 G>A; p.Gly332Ser | Ja | 7,8 | Ja |
| PKD13, moderat | c.993 C>A; p.Asp331Glu, c.1219 G>A; p.Glu407Lys | Nein | 7,8 | Nein |
| PKD14, moderat | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln | Nein | 7,7 | Nein |
| PKD16, schwer | c.460 G>A;p.Ala154Thr, c.1529 G>A;p.Arg510Gln | Ja | 6,3 | Ja |
| PKD17, schwer | homo.c.410 C>T; p.Ala137Val | Nein | 7 | Ja |
| PKD18, schwer | c.1456 C>T;p.Arg486Trp, c.1147 G>A;pAla392Thr | Nicht bekannt | 10,3 | Ja |
| PKD20, schwer | homo.c.460 G>A;p.Ala154Thr | Ja | 6,5 | Nein |
| PKD21, schwer | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c.1495 T>C;p.Ser499Pro | Ja | 7,2 | Nein |
| PKD23, mild | c.1456 C>T;p.Arg486Trp, c.1097 C>T;p.Pro366Leu | Nein | 12 | Nein |

| | | | | |
|---------------|--|----|-----|------|
| PKD24, schwer | c.1529 G>A;p.Arg510Gln, c. 977 T>A; p.Ile326Asn | Ja | 7,1 | Ja |
| PKD25, schwer | homo.c.1529 G>A;p.Arg510Gln | Ja | 5,9 | Nein |
| PKD28, schwer | homo.c.994 G>A; p.Gly332Ser | Ja | 7,8 | Ja |

In der Tabelle 19 werden alle Patienten mit 1 Missense und 1 Non-Missense Mutation zusammengefasst.

Tabelle 19: Klinische Charakteristika der Patienten mit PK-Mangel und 1 Missense und 1 Non-Missense Mutation (Missense/ Non-Missense)

| Patienten-ID und Phänotyp | Molekulargenetik | Ikterus neonatorum | Hb der letzten 5 Jahre (g/dl) | Splenektomie |
|---------------------------|--|--------------------|-------------------------------|--------------|
| PKD2, schwer | c.721 G>T;p.Glu241X, c.1594 C>T; p.Arg532Trp | Ja | 6,9 | Ja |
| PKD3, moderat | c.721 G>T;p.Glu241X, c.993 C>A;p.Asp331Glu | Ja | 12 | Nein |
| PKD10, moderat | c.721 G>T;p.Glu241X, c.993 C>A;p.Asp331Glu | Ja | 11,9 | Nein |
| PKD12, schwer | c.1351_1356 dupCCCACT;p.Thr452_Glu453InsProThr, c.1373 G>A;p.Gly458Asp | Ja | 6,9 | Nein |
| PKD19, schwer | c.401 T>A; p.Val134Asp, IVS4- 2a>c(c.376-2a>c) | Ja | 10,1 | Nein |
| PKD26, schwer | c.119 delG;p.Arg41GlyfsTer7, c.841 G>A;p.Asp281Asn | Ja | 7 | Ja |

Alle Patienten (6 von 6) mit einer Missense und einer Non-Missense Mutation hatten einen Ikterus neonatorum und bei 33% (2 von 6) dieser Patienten musste eine Splenektomie durchgeführt werden. Der durchschnittliche Hämoglobinwert in dieser Gruppe war 9,1 g/dl.

4.20. Schwangerschaft

Zwei erfolgreiche Schwangerschaften sind bei Frauen in unserer Studie erfolgt. Zudem erfolgten 3 erfolgreiche Vaterschaften. In allen Fällen handelt es sich um spontane Schwangerschaften.

5. Diskussion

Demographische, klinische und laborchemische Daten

In dieser Studie wurden 28 Patienten mit PK-Mangel untersucht. Das sind 11% (28 von 254) der Patienten, die an der internationalen PKD Natural History Study teilgenommen haben (Grace et al. 2018a). Das Patientenalter lag bei Einschluss in unsere Studie zwischen 6 Monaten und 58 Jahren. Das mediane Alter bei Diagnosestellung lag bei 6,9 Jahren. In einer Studie von Zanella et al 2005 wurden 61 Patienten mit PK Mangel im Alter von einem Tag bis 65 Jahre untersucht, so dass eine ähnliche Altersverteilung in den beiden Studien vorliegt. Der Altersmittelwert bei Diagnosestellung lag allerdings in der Studie von Zanella et al bei 16 Jahren und war somit deutlich höher als in unserer Studie. Das mag daran liegen, dass in der letzten Dekade die molekulargenetischen Untersuchungen für die Diagnosesicherung eines Verdachts auf PK-Mangel häufiger angewendet wurden und daher die Erkrankung früher diagnostiziert wird. Zudem wurden in den letzten Jahren Fälle mit PK-Mangel mit bis dato unbekanntem Mutationen im PKLR Gen publiziert, so dass der Kenntnisstand zu der Erkrankung breiter geworden ist.

Das mediane Alter bei Diagnosestellung war bei den 254 Patienten der internationalen PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) deutlich niedriger und lag bei 0,4 Jahren (Streubreite: 0-60,3 Jahre). Das mediane Alter bei Diagnosestellung bei den Amischen (20% der Patienten) lag im Alter <1 Jahr, während bei dem Rest der Patienten (80%) bei 1,1 Jahren lag (Grace et al. 2018a). Somit werden Patienten in Deutschland im Vergleich zu den Patienten auf internationaler Ebene in einem höheren Alter diagnostiziert.

In unserer Studie war der Anteil der Patienten mit einer schweren Anämie im Vergleich zu der Studie von Zanella et al 2005 höher (57% versus 33%), während der Anteil der Patienten mit einer moderaten Anämie niedriger war (11% versus 33%). Der Anteil der Patienten mit einer milden Anämie war in beiden Studien vergleichbar (28% versus 31%). Zudem war der Anteil der Patienten, die mindestens eine Transfusion benötigten, in unserer Studie höher (86% versus 64%). Dies kann durch den höheren Anteil an Patienten mit schwerer Anämie in unserer Studie erklärt werden. Unsere Daten sind mit den Daten der internationalen Studie vergleichbar, da 84% der Patienten (210 von 250) in dieser Studie mindestens eine Transfusion in ihrem Leben benötigten (Grace et al. 2018a).

Der Anteil der Patienten in unserer Arbeit, die eine Transfusion in der Neugeborenenzeit benötigten ist mit 64% (18 von 28) hoch. Trotzdem waren 28% (5 von 18) dieser Patienten transfusionsunabhängig im Verlauf, so dass eine Transfusion in der Neugeborenenzeit bei Patienten mit PK-Mangel kein prädiktiver Parameter für die Transfusionspflichtigkeit im späteren Leben ist. Ähnliche Daten wurden von Boivin und Ottenwaelter 1982 präsentiert. In dieser Arbeit waren 44% (4 von 9) der Patienten mit compound heterozygoten PK-Mangel trotz Transfusion in der Neugeborenenzeit, transfusionsunabhängig im Verlauf. Im Gegensatz dazu scheint eine Austauschtransfusion in der Neugeborenenzeit ein sehr sensibler Parameter für die Entwicklung eines schweren Phänotyps zu sein. 90% (9 von 10) unserer Patienten, die

eine Austauschtransfusion in der Neugeborenenzeit benötigten, entwickelten im Verlauf einen schweren Phänotyp.

In vielen Arbeiten wird PK- Mangel als eine Erkrankung mit einem heterogenen Phänotyp beschrieben (Zanella et al. 2005; Grace et al. 2015). Dies wird auch durch unsere Daten bestätigt. 54% der Patienten (15 von 28) waren bei Einschluss chronisch transfusionspflichtig (≥ 6 Transfusionen in 12 Monaten), 14% der Patienten (4 von 28) mussten ausschließlich bei akuten Ereignissen transfundiert werden. 18% der Patienten (5 von 28) benötigten eine Transfusion ausschließlich in der Neugeborenenzeit und waren dann im Verlauf und bis zum Einschluss in diese Studie nicht mehr transfusionspflichtig.

In unserer Studie zeigten 71% der Patienten einen Ikterus neonatorum, während in der Studie von Zanella et al. 2005 54% der Patienten einen Ikterus neonatorum zeigten. In der internationalen Studie zeigten 90 % der Neugeborenen einen Ikterus neonatorum (Grace et al. 2018a), 93% wurden mit Phototherapie und 46% mit Austauschtransfusion behandelt. Ähnliche Daten finden sich in der Arbeit von Zanella et al. 2005 und in unserer Arbeit, wo 45% der ikterischen Neugeborenen mit Austauschtransfusionen behandelt wurden. Diese Zahlen zeigen, dass ein Ikterus neonatorum ein sensitiver Parameter für die Diagnose eines PK-Mangels ist, insbesondere, wenn der Schweregrad so ausgeprägt ist, dass Austauschtransfusionen benötigt werden. Jedoch muss betont werden, dass viele Patienten mit PK-Mangel, insbesondere bei den milden Formen keinen Ikterus neonatorum aufweisen (21% der Patienten in unserer Studie, 38% der Patienten in der Studie von Zanella et al. 2005, 10% der Patienten in der Studie von Grace et al. 2018), so dass bei hochgradigem klinischen Verdacht auch ohne Ikterus in der Neugeborenenperiode ein PK-Mangel vorliegen kann.

Zanella et al. 2005 betonen, dass Patienten mit PK-Mangel, die in der Neugeborenenzeit eine Austauschtransfusion benötigten, ein hohes Risiko für einen schweren Krankheitsverlauf hatten. Diese Beobachtung wird auch durch unsere Daten bestätigt, da bei 90 % (9 von 10) unserer Patienten mit Austauschtransfusion in der Neugeborenenperiode ein schwerer PK-Mangel mit Transfusionspflichtigkeit vorlag und bei 70 % (7 von 10) eine Splenektomie im Verlauf notwendig war.

Das indirekte Bilirubin war bei allen Patienten in unserer Studie erhöht ($\geq 0,8$ mg/dl). In der internationalen PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) zeigten 90% der Patienten eine indirekte Hyperbilirubinämie mit einem medianen Wert von 3,7 mg/dl. Zanella et al. 2005 berichten, dass bei Patienten mit PK-Mangel das indirekte Bilirubin maximal einen Wert von 5 mg/dl erreicht. In unserer Studie hatten 64% (18 von 21) der Patienten ein erhöhtes indirektes Bilirubin < 5 mg/dl und nur 25 % ≥ 5 mg/dl, so dass die Daten dieser Studien übereinstimmen. Es könnte durchaus sein, dass bei den Patienten mit indirekten Bilirubinwerten ≥ 5 mg/dl zusätzliche genetische Erkrankungen vorliegen, wie der Morbus Gilbert- Meulengracht, der durch Verminderung der Aktivität der UDP-Glukuronyltransferase zu einem Anstieg des indirekten Bilirubins führt.

Bei Patienten mit PK-Mangel kommt es aufgrund der Hämolyse zu einem gesteigerten Erythrozytenabbau, so dass ein Anstieg der Laktatdehydrogenase zu erwarten ist.

Interessanterweise ist bei vielen Patienten mit PK-Mangel in unserer Studie der LDH Wert normal (43% der Patienten). Auch in der internationalen Studie (Grace et al. 2018a) zeigen sich öfters normale LDH Werte, wobei genaue Zahlen nicht publiziert wurden. Da der LDH Wert ein Maßstab für den Zellzerfall ist, ist erwartungsgemäß bei Patienten mit einem schweren PK-Mangel die Hämolyse ausgeprägter, so dass bei diesen Patienten eher eine LDH Erhöhung zu erwarten ist, als bei den Patienten mit einem milden PK-Mangel und milder Hämolyse. Diese Hypothese wird von unseren Daten bestätigt, da bei 88 % (14 von 16) unserer Patienten mit einem schweren PK-Mangel eine LDH Erhöhung vorlag, während nur bei 38 % (3 von 8) der Patienten mit einem milden PK-Mangel der LDH Wert erhöht war. Bei der Mehrzahl der Patienten mit einem moderaten PK-Mangel war die LDH erhöht (66 % der Patienten).

In der Studie von Zanella et al. 2005 hatten 29 % der Patienten eine Splenektomie während in unserer Studie 43% der Patienten splenektomiert wurden. Das mag daran liegen, dass schwer betroffene Patienten eher einen höheren Transfusionsbedarf haben, so dass eine Splenektomie als therapeutische Möglichkeit mit dem Ziel der Verlängerung des Transfusionsintervalls häufiger in Frage kommt. In unserer Studie waren der Anteil der Patienten mit schwerer Anämie und Transfusionspflichtigkeit höher als in der Studie von Zanella et al. 2005, so dass der Anteil der splenektomierten Patienten auch höher war. Der Anteil der Patienten mit Splenektomie war in der internationalen PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) sogar mit 59% (150 von 254) deutlich höher. Dies mag daran liegen, dass die Splenektomie bei den Amischen, die meistens einen schweren Phänotyp aufweisen, deutlich großzügiger durchgeführt wird. Diese Hypothese wird dadurch bestätigt, dass bei 93% der Amischen versus 50% der nicht Amischen eine Splenektomie durchgeführt wurde.

Gesundheitszustand der volljährigen Patienten mit PK-Mangel

Mittels einer VAS konnten die volljährigen Patienten mit PK-Mangel ihren Gesundheitszustand von 0-100 bewerten. 100 entsprach der besten Gesundheit und 0 der schlechtesten Gesundheit, die sich ein Patient vorstellen konnte. Mit dem Ziel die Gesundheitsbeeinträchtigung der volljährigen Patienten ausschließlich durch den PK-Mangel zu beurteilen, haben wir die Patienten in 2 Gruppen eingeteilt, eine Gruppe ohne Komorbiditäten (40% der volljährigen Patienten) und eine Gruppe mit Komorbiditäten (60% der volljährigen Patienten).

Da bei 60% (6 von 10) der volljährigen Patienten in unserer Studie Komorbiditäten bestanden (hereditäre Hämochromatose, Pulmonale Hypertension, Bronchiolitis obliterans, Hypothyreose, Osteopenie, Morbus Gilbert und Arrhythmie), spiegelt die Bewertung der Patienten eventuell die Gesundheitsbeeinträchtigung durch zusätzliche Krankheitsbilder und nicht ausschließlich durch den PK-Mangel wieder. Diese Hypothese wird dadurch bestätigt, dass die Patienten mit Komorbiditäten eine deutlich schlechtere Note in der VAS (Durchschnittsnote 53,7 - siehe Tabelle 2) gegeben haben, als die Patienten ohne Komorbiditäten (Durchschnittsnote 84 - Tabelle 2).

Wichtig ist jedoch zu betonen, dass Osteopenie oder Arrhythmie seltene Komplikationen eines PK-Mangels im Rahmen einer extramedullären Hämatopoese oder Eisenüberladung sein können. Die übrigen Komorbiditäten sind keine bekannten Komplikationen des PK-Mangels.

Aus der Tabelle 2 ergibt sich, dass volljährige Patienten mit einem PK- Mangel als einzige Diagnose einen subjektiv befriedigenden Gesundheitszustand aufweisen. Mit einer Durchschnittsnote von 84 in der VAS scheinen diese Patienten leicht oder gar nicht beeinträchtigt zu sein. Da zu dieser Gruppe junge erwachsene Patienten gehören mit einem Durchschnittsalter von 23,8 Jahre, ist diese Gruppe durch das junge Alter der Patienten leider nicht für volljährige Patienten mit PK-Mangel als einzige Diagnose repräsentativ. Zusätzlich handelt es sich um eine kleine Patientenzahl (insgesamt 4 Patienten). In Zusammenschau all dieser Daten lässt sich feststellen, dass unsere Studie ein Hinweis dafür geben kann, dass volljährige Patienten, die ausschließlich an PK-Mangel leiden, nur eine leichte Beeinträchtigung ihres Gesundheitszustandes durch den PK-Mangel aufweisen, wobei größere Patientenzahlen erforderlich sind, um diese Hypothese zu beweisen.

Kurz vor Komplettierung dieser Dissertation wurde der erste Artikel zu der Lebensqualität von erwachsenen Patienten mit PK- Mangel publiziert (Grace et al. 2018b). Insgesamt wurden in diese Studie 21 erwachsene Patienten von der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) aus 3 Ländern (USA, Deutschland und Niederlanden) eingeschlossen. Die häufigsten Symptome, die die Patienten berichteten, waren Sklerenikterus (90,5%), Müdigkeit (85,7%) und Hautikterus (81%). Sowohl das Sozialleben (bei 52,4% der Patienten) als auch die Interaktion mit der Familie und den Freunden (bei 33,1% der Patienten) wurden durch die Erkrankung negativ beeinträchtigt. Zudem berichteten 47,6 % der Patienten, dass sie Sorgen um das Leben mit PK-Mangel haben und 33,3%, dass sie Schwierigkeiten beim Erledigen von Hausarbeiten hatten. Insgesamt stellten die Autoren fest, dass Patienten, die typischen Symptome von PK-Mangel aufweisen (Ikterus, Dyspnoe, Müdigkeit), insgesamt einen niedrigeren HRQoL zeigen. Die Patienten hatten ein medianes Alter von 38,9 Jahren und waren somit deutlich älter als die Gruppe unserer Patienten ohne Komorbiditäten (23,8 Jahre). In dieser Publikation (Grace et al. 2018b) wird der mediane Wert in der VAS Skala nicht berechnet, so dass die Daten nicht mit unseren Daten vergleichbar sind.

Lebensqualität der minderjährigen Patienten mit PK-Mangel

In der Literatur gibt es keine vergleichbaren Studien zur Lebensqualität der minderjährigen Patienten mit PK-Mangel. Eine Online-Recherche mit den Stichwörtern „quality of life in children with pyruvate kinase deficiency“, „health related quality of life in children with pyruvate kinase deficiency“ und „social life/emotional disorders in children with pyruvate kinase deficiency“ hat keine relevanten Artikel gezeigt (Stand Oktober 2019). Es stehen vergleichbare Studien zur Lebensqualität bei anderen kongenitalen hämolytischen Anämien wie Hämoglobinopathien zur Verfügung.

Die gesundheitsbezogene Lebensqualität (HRQL-Health Related Quality of Life) der pädiatrischen Patienten mit PK-Mangel wurde in dieser Arbeit genauer analysiert.

Die mittleren PedsQL Scores der Kinder ≥ 5 Jahre lagen im Bereich ≥ 80 und entsprachen somit einem guten HRQoL. Die mittleren PedsQL Scores der Kinder < 5 Jahre entsprachen einem moderaten HRQoL, wobei die Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen nicht statistisch signifikant waren. Dies mag dran liegen, dass in der Altersgruppe < 5 Jahre der Anteil der Kinder mit einer schweren Anämie deutlich höher war im Vergleich zu der Altersgruppe der Kinder ≥ 5 Jahre (88% versus 37%).

In unserer Studie handelt es sich um kleine Patientenzahlen, so dass weitere Studien mit größeren Patientenzahlen erforderlich sind, um zuverlässige Schlussfolgerungen ziehen zu können. Die Signifikanz von Studien mit größeren Patientenzahlen wird klar, wenn man Studien von Patienten mit anderen Formen von kongenitalen hämolytischen Anämien vergleicht. In der Mehrzahl dieser Studien wurde die Lebensqualität der Patienten durch die Erkrankung negativ beeinflusst.

In einer Studie haben Menezes et al. 2013 die Lebensqualität von 100 minderjährigen Patienten mit Sichelzellanämie mit der Lebensqualität von 50 gesunden minderjährigen Patienten verglichen. Menezes et al. haben die gleiche Version des Fragebogens zur Erfassung der Lebensqualität (PedsQL 4.0) verwendet, die in dieser Arbeit auch angewandt wurde. Die Patienten wurden altersentsprechend in 3 Gruppen (5-7 Jahre, 8-12 Jahre und 13-18 Jahre) unterteilt. Die Lebensqualität der Patienten mit Sichelzellanämie war in allen 4 Bereichen (körperlicher, sozialer, emotionaler und schulischer Bereich) schlechter verglichen mit gesunden Probanden. Die Ergebnisse waren statistisch signifikant. Insbesondere wurde in allen Altersgruppen der körperliche Bereich erheblich beeinflusst. Die Patienten mit Sichelzellanämie hatten auch deutlich niedrigere HRQL Scores im Vergleich zu Gesunden im emotionalen, sozialen und schulischen Bereich.

Beverung et al. 2015 haben in einer Studie den HRQL Index bei 251 minderjährigen Patienten mit Sichelzellanämie bestimmt und haben in Ihrer Studie insbesondere den Grad der Schmerzen im Vergleich zur Schwere der Erkrankung analysiert. Was die Lebensqualität betrifft, sind sie zur Schlussfolgerung gekommen, dass Patienten mit Sichelzellanämie sowohl im körperlichen (HRQL Score ≤ 72.98) als auch im schulischen Bereich (HRQL Score ≤ 62.99) erhebliche Beeinträchtigungen aufwiesen.

In Zusammenschau aller oben genannten Daten lässt sich feststellen, dass die Patienten mit PK-Mangel einen deutlich höheren HRQL als die Patienten mit Sichelzellanämie sowohl im körperlichen als auch im psychosozialen Bereich aufweisen. Die Patienten mit PK-Mangel haben keine Schmerzkrisen, im Gegensatz zu den Patienten mit Sichelzellanämie. Dies ist sicherlich ein Parameter, der den HRQL positiv beeinflusst.

Vielleicht wichtiger, da besser vergleichbar, ist der Vergleich der HRQLs der Patienten mit PK-Mangel mit den HRQLs der Patienten mit β -Thalassämie major. Die Patienten mit PK-Mangel weisen höhere HRQL Scores im Vergleich zu den Patienten mit β -Thalassämie major auf.

Adam et al. 2017 untersuchten 130 minderjährige Patienten mit β -Thalassämie major im Vergleich zu 60 gesunden Menschen in Ägypten und haben festgestellt, dass die Patienten mit Thalassämie in allen 4 Bereichen der Lebensqualität schlechtere Ergebnisse als die gesunde Kontrollgruppe aufwiesen. Die Ergebnisse waren statistisch signifikant. Insbesondere war der HRQL Index von transfusionsabhängigen Patienten deutlich schlechter als der HRQL Index von transfusionsunabhängigen Patienten. Patienten mit einem höheren Bildungsstatus hatten höhere HRQL Scores im Vergleich zu Patienten mit einem niedrigeren Bildungsniveau. In einer ähnlichen Studie haben Sharma et al. 2017 in Indien 75 minderjährige Patienten mit β -Thalassämie major mit 80 gesunden Min

derjährigen verglichen und haben ebenso statistisch signifikant schlechtere HRQL Scores bei den Patienten mit Thalassämie festgestellt.

Ismail et al. 2006 untersuchten 78 minderjährige Patienten in Malaysia mit β -Thalassämie major, Thalassämie intermedia und HbE/ β -Thalassämie und haben die Ergebnisse mit einer Kontrollgruppe von 235 minderjährigen Probanden verglichen. Die Autoren sind zur Schlussfolgerung gekommen, dass die Patienten mit Thalassämie schlechtere HRQL Scores im körperlichen, sozialen und schulischen Bereich aufwiesen. Diese Ergebnisse waren statistisch signifikant. Die HRQL Scores waren auch etwas schlechter im emotionalen Bereich, diese Ergebnisse waren aber nicht statistisch signifikant.

Der PedsQL 4.0 dient in unserer Arbeit als krankheitsunspezifischer Fragebogen, um die Lebensqualität der Kinder mit PK-Mangel zu erfassen. Zum jetzigen Zeitpunkt steht kein krankheitsspezifischer Fragebogen für diese seltene Anämieform zur Verfügung. Da in dieser Arbeit der Anteil der Kinder mit einer schweren Anämie hoch ist (63%), wäre ein krankheitsspezifischer Fragebogen mit gezielten Fragen zur Folgen der Anämie und der Transfusionsabhängigkeit eher sinnvoller, um die Aspekte der Lebensqualität dieser Kinder widerzuspiegeln.

Eisenüberladung und Chelat-Therapie bei Patienten mit PK Mangel

Die Eisenüberladung ist eine der gefürchtesten Komplikationen bei Patienten mit PK-Mangel. Folgende Parameter gelten als Kriterien für Eisenüberladung bei Patienten mit PK-Mangel (van Beers et al. 2018):

- Ferritin >1000 ng/ml
- Chelat-Therapie in den letzten 12 Monaten vor Einschluss in der Studie
- Pathologische Lebereisenmessung (je nach Methode entsprechende Normwerte, siehe Kapitel 1.4)
- Pathologische Herzeisenmessung (siehe Kapitel 1.4)

Ein Ferritinwert >1000 ng/ml gilt als indirekter Hinweis für eine Eisenüberladung. Da das Ferritin als Akute Phase Protein auch in Situationen wie Stress, Fieber, Infektion oder Trauma

ansteigt, ist dieser Wert unspezifisch. In dieser Arbeit hatten 18% der Patienten ein Ferritin >1000 ng/ml. Der mittlere Ferritinwert der Patienten lag bei 853 ng/ml versus 583 ng/ml bei den Patienten der PKD Natural History Study (van Beers et al. 2018). Dieser hohe Mittelwert in unserer Studie lässt sich durch den hohen Anteil der Patienten, die bei Einschluss chronisch transfusionspflichtig waren (54%), gut erklären. Zum Zeitpunkt des Einschlusses waren nur 12% der Patienten der internationalen Studie chronisch transfusionspflichtig. Patienten, die chronisch transfusionspflichtig sind (≥ 6 Transfusionen in 12 Monaten) haben höhere mittlere Ferritinwerte im Vergleich zu den Patienten, die nicht chronisch transfusionspflichtig sind. 80% (12 von 15) der chronisch transfusionspflichtigen Patienten in unserer Studie hatten ein Ferritin >500 ng/ml, während nur 22 % (2 von 9) der nicht chronisch transfundierten Patienten ein Ferritin >500 ng/ml hatten. Diese 2 Patienten waren im Rahmen von akuten Situationen transfusionspflichtig. Bei Patienten, die keine Transfusionen in ihrem Leben hatten, wurde keine Ferritinbestimmung in den letzten 12 Monaten vor Einschluss durchgeführt.

Als spezifischer Parameter für die Erfassung der Eisenüberladung gilt eine Lebereisenmessung mittels MRT. Es gibt keinen spezifischen Cut off für Eisenüberladung in der Leber für Patienten mit PK-Mangel. Gemäß den Empfehlungen für die β Thalassämie major ist ein Lebereisengehalt von > 3 g/mg Trockengewicht im T2* MRT kompatibel mit einer Organsiderose bei Eisenüberladung (van Beers et al. 2018). In alternativen Testmethoden haben Patienten mit einem Lebereisengehalt >1 mg/g_{liver} in der SQUID Messung oder $> 4,5 \pm 0,8$ mg/g_{d.w} im Ferriscan eine Eisenüberladung und somit eine Indikation für eine Chelat-Therapie (Cario et al. 2015).

Gemäß den oben erwähnten Empfehlungen erfüllten 47% (13 von 28) unserer Patienten die Kriterien für eine Eisenüberladung und erhielten eine Chelat-Therapie. Eine pathologische Lebereisenmessung hatten 11% (3 von 28) der Patienten und ein Ferritin > 1000 ng/ml hatten 18% (5 von 28) der Patienten. Dieser niedrige Wert lässt sich dadurch erklären, dass es sich oft um Messungen während der Chelat-Therapie handelt und nicht um Ausgangsmessungen vor Beginn der Chelat-Therapie. Nur ein Patient erfüllte das Kriterium für eine schwere Lebersiderose (Lebereisenbestimmung mittels MRT). Erstaunlicherweise lag bei diesem Patient der mittlere Ferritinwert unter dem Cut off von 1000 ng/ml ebenso wie bei einem anderen Patienten mit einer pathologischen SQUID Messung. Dies bestätigt die Beobachtung, dass das Ferritin nicht immer gut mit dem Ausmaß der Leber- und Organsiderose korreliert. Selbst Patienten mit einem Ferritin < 1000 ng/ml können eine schwere Organsiderose aufweisen. 9 Patienten der internationalen PKD Natural History Study zeigten einen Lebereisengehalt von > 3 g/mg Trockengewicht im T2* MRT, obwohl sie einen Ferritinwert < 1000 ng/ml hatten (van Beers et al. 2018). Hier hatten 89% (8 von 9) dieser Patienten einen Ferritinwert > 500 ng/ml. Van Beers et al. 2018 betonen, dass ein Ferritin > 1000 ng/ml eine Sensitivität von nur 53% für einen Lebereisengehalt von > 3 mg/g Trockengewicht im T2* MRT aufweist, während ein Ferritinwert > 500 ng/ml eine Sensitivität von 90% zeigt. Dies bedeutet, dass die Ferritingrenze von 1000 ng/ml das Ausmaß der Organsiderose unterschätzen kann. Die Indikation für eine Lebereisenmessung bei Patienten mit PK-Mangel sollte großzügiger gestellt werden, so dass Patienten mit repetitive Ferritinwerten >500 ng/ml oder mehr als 10 kumulativen Transfusionen auf jeden Fall die Kriterien dafür erfüllen.

Eine Chelat-Therapie bei Eisenüberladung ist sowohl bei chronisch transfusionspflichtigen Patienten mit PK-Mangel als auch manchmal bei transfusionsunabhängigen Patienten notwendig (Zanella et al. 2001; van Beers et al. 2018). Auch Patienten, die nur im Rahmen von akuten Situationen (Infektion, Schwangerschaft) transfusionspflichtig sind, können eine Eisenüberladung entwickeln (Andersen et al. 2004).

Zanella et al. 2001 haben in einer Analyse von 25 transfusionsunabhängigen Patienten mit PK-Mangel bei 13 davon erhöhte Transferrinsättigungswerte und Ferritinwerte festgestellt. Diese Patienten hatten keine Kormobiditäten und keine eisenhaltigen Präparate eingenommen. Bei 5 Patienten wurde eine Leberbiopsie durchgeführt. In der Leberbiopsie konnten die Autoren bei 2 Patienten eine milde-, bei 2 Patienten eine moderate- und bei einem Patienten eine schwere Eisenüberladung feststellen. Der Patient mit der schweren Lebersiderose war compound heterozygot (C282Y/ H63D) für Mutationen im HFE Gen (Gen der hereditären Hämochromatose). 1 Patient war heterozygot für die Mutation H63D und hatte eine moderate Lebersiderose. Weder der zweite Patient mit der moderaten Lebersiderose noch die Patienten mit der milden Lebersiderose hatten Mutationen im HFE Gen. Interessanterweise hatte ein anderer homozygoter (C282Y/C282Y) nicht transfusionspflichtiger Patient mit hereditärer Hämochromatose, in einer Leberbiopsie während einer Cholezystektomie 3 Jahre vor Diagnosestellung keine Lebersiderose.

Andersen et al. 2004 haben einen Fall eines schwer betroffenen Patienten mit PK-Mangel und multiplen Transfusionen bis zum dritten Lebensjahr publiziert. Der Patient wurde mit 3 Jahren splenektomiert und hat im Verlauf bis zum zwanzigsten Lebensjahr eine einzige weitere Transfusion im Rahmen einer Infektion benötigt. Im Alter von 14 Jahren wurde ein Ferritin von 251 µg/l gemessen und es kam zu einem Anstieg des Ferritinwerts bis 912 µg/l im Alter von 21 Jahren. Der Patient war heterozygot für die Mutation H63D im HFE Gen. In der Leberbiopsie zeigte er eine moderate Eisenüberladung. Die Autoren schlussfolgerten, dass die Koinzidenz von chronischer Hämolyse, H63D Mutation im HFE Gen und Splenektomie entscheidende Faktoren für die Entwicklung einer Eisenüberladung sind.

Mutationen im HFE Gen müssen auf jeden Fall bei Patienten mit PK-Mangel und erhöhten Ferritinwerten ausgeschlossen werden.

Die ineffektive Erythropoese bei PK-Mangel kann auch ein Grund für Eisenüberladung bei transfusionsunabhängigen Patienten sein (Zanella et al. 2001; van Beers et al. 2018). Dies ist belegt durch die Tatsache, dass 10% von den transfusionsunabhängigen Patienten der internationalen PKD Natural History Study eine Chelat-Therapie erhielten und 86% (6 von 7 Patienten) eine Lebersiderose im MRT zeigten (van Beers et al. 2018; Grace et al. 2019), so dass die in der Literatur beschriebene ineffektive Erythropoese beim PK-Mangel tatsächlich ein auslösender Faktor für eine Organsiderose sein kann. Allerdings wird in der Publikation von van Beers et al. 2018 nicht der Mutationsstatus des HFE Gens dieser Patienten erwähnt, so dass eine hereditäre Hämochromatose als Kofaktor für die Entwicklung einer Lebersiderose von diesen publizierten Daten nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Leider gibt es in unserer Studie keine Daten, die diese Fragestellung beantworten können, da bei den 4 transfusionsunabhängigen Patienten mit PK-Mangel keine Lebereisenmessung durchgeführt

wurde. Zudem fehlen Daten zu dem Ausmaß der Herzsiderose in unserer Studie, da bei keinem einzigen Patient bei Einschluss eine Herzeisenmessung durchgeführt wurde. Im Gegensatz zu unseren Daten aus Deutschland wurde in der PKD Natural History Study (van Beers et al. 2018) bei 31% der Patienten eine Herzeisenmessung durchgeführt und bei 7% dieser Patienten zeigte sich eine Herzsiderose. Diese Patienten hatten im Durchschnitt 39 lebenslange Transfusionen. Empfehlungen fehlen, um die Indikation für eine Herzeisenmessung zu stellen. Da der Aufwand Untersuchung aber gering ist, sollte über eine Herzeisenmessung ab 10 kumulativen Transfusionen nachgedacht werden.

Eine Chelat-Therapie erhielten 47% (13 von 28) der Patienten in dieser Arbeit und 34% der Patienten der internationalen Studie (van Beers et al. 2018). Bei 85% der Patienten in unserer Arbeit wurde eine Therapie mit Deferasirox durchgeführt. Der Anteil der Patienten mit Eisenüberladung in dieser Arbeit ist höher (47% versus 28%) als in der Studie von Zanella et al. 2005. Dies mag daran liegen, dass in den letzten Jahren bei immer mehr Patienten der Lebereisengehalt mittels MRT untersucht wird, so dass Patienten mit Eisenüberladung früher entdeckt werden. Zudem ist die Durchführung einer Chelat-Therapie seit der Zulassung von oralen Chelatbildnern wie Deferasirox im Alltag einfacher umsetzbar im Vergleich zur subcutanen Deferoxamin Gabe. Obwohl in der Leitlinie von Cario et al. 2015 Deferoxamin als Medikament der ersten Wahl bei PK-Mangel empfohlen wird, scheint die Therapie mit dem oralen Deferasirox für die Mehrzahl der Kliniker die bevorzugte Chelat-Therapie zu sein.

Unter Chelat-Therapie hatten 54% (7 von 13) der Patienten ein Ferritin < 1000 ng/ml und 38% (5 von 13) ein Ferritin > 1000 ng/ml. Bei 8 % (1 von 13) ist das Ferritin unter Chelat-Therapie nicht bekannt. Selbst bei den Patienten, die unter Chelat-Therapie ein Ferritin <1000 ng/ml erreichen, kann sich eine Lebersiderose entwickeln. 29 % (2 von 7) unserer Patienten mit einem Ferritin < 1000 ng/ml hatten eine pathologische Lebereisenmessung. Diese Tatsache liegt nahe, dass die Anpassung der Dosierung der Chelat-Therapie nicht nur auf dem Ferritinwert basieren soll, sondern nach der Lebereisenmessung gesteuert werden soll.

In Zusammenschau aller oben genannten Studien lässt sich feststellen, dass ein engmaschiges Monitoring hinsichtlich einer Eisenüberladung bei jedem Patienten mit PK-Mangel nötig ist. Selbst transfusionsunabhängige Patienten können eine Eisenüberladung entwickeln, obwohl der Pathomechanismus unklar bleibt und der Mutationsstatus des HFE Gens in einem solchem Fall bestimmt werden sollte, um eine hereditäre Hämochromatose als Kofaktor für die Entwicklung einer Eisenüberladung auszuschließen. Für ein zuverlässiges Monitoring reicht ein Ferritinwert nicht aus, weil dieser Parameter oft nicht mit den Eisenspeichern im Gewebe korreliert. Eine Bestimmung des Lebereisens mittels MRT jährlich ist bei Patienten mit PK-Mangel unerlässlich.

Medikamentöse Therapie mit Folsäure bei Patienten mit PK-Mangel

Es gibt keine kausale medikamentöse Therapie bei Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten. Die meisten Patienten erhielten zum Zeitpunkt des Einschlusses in diese Arbeit keine Dauermedikation. Bei 36% (10 von 28) der Patienten wurde eine Therapie mit Folsäure und bei 47% (13 von 28) eine Chelat- Therapie durchgeführt.

Es wird vermutet, dass aufgrund einer sekundären Steigerung der Erythropoese bei Patienten mit hämolytischen Anämien eine Folsäuresubstitution die Erythropoese erleichtern könnte (Dixit et al. 2016). Es wäre interessant zu wissen, inwieweit eine Folsäuresubstitution einen Effekt auf die hämatologischen Parameter der Patienten mit PK-Mangel hat. Dixit et al. 2016 haben bei Patienten mit Sichelzellanämie und Folsäuresubstitution keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe (keine Substitution) in Bezug auf den Hämoglobinwert festgestellt. Selbst nach prospektiver Beobachtung der Patienten für 1 Jahr konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf den Hämoglobinwert festgestellt werden.

Mojtahedzadeh et al. 2006 haben bei 51 Patienten mit β Thalassämie major den Effekt der Behandlung mit Folsäure (1 mg einmal täglich) über 1 Monat analysiert. Die Autoren haben die Patienten in 2 Gruppen geteilt: eine Kontrollgruppe mit 23 Patienten und eine Interventionsgruppe mit 28 Patienten. In beiden Gruppen wurde vor Beginn der Therapie der Folsäurespiegel bestimmt und bei 68% ein Mangel festgestellt (Level im Serum < 3 ng/ml). Nach der Behandlung mit Folsäure konnte in der Interventionsgruppe ein statistisch signifikanter Anstieg des Folsäure- Spiegels im Blut festgestellt werden, aber kein Anstieg des Hämoglobinwerts.

Der durchschnittliche Hämoglobinwert bei den Patienten mit Folsäuresubstitution in unserer Arbeit lag bei 7,6 g/dl, während er bei Patienten ohne Folsäuresubstitution bei 9 g/dl lag. Insbesondere hatten 80% (8 von 10) der Patienten in der Folsäuregruppe eine schwere Anämie (Hb < 8 g/dl), während nur 44% der Patienten (8 von 18) in der Kontrollgruppe eine schwere Anämie hatten. 44% (8 von 18) der Patienten in der Kontrollgruppe hatten eine leichte Anämie (8 von 18).

Es ist durchaus möglich, dass diese Zahlen als iatrogener Effekt zu erklären sind. Bei Patienten mit einer schweren Anämie wird die ärztliche Entscheidung einfacher getroffen einen Patient mit Folsäure zu behandeln als bei Patienten mit einer leichten Anämie. Dies spiegeln auch die Zahlen wieder. Eine Folsäuresubstitution wurde bei 50% (8 von 16) der Patienten mit einer schweren Anämie und nur bei 11% (1 von 9) der Patienten mit einer leichten Anämie durchgeführt. Die Compliance der Patienten bezüglich der Einnahme von Folsäure ist nicht bekannt, daher ist schwierig den Effekt der Folsäuresubstitution abzuschätzen.

Die Daten der internationalen PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) zeigen auch Ähnlichkeiten zu unseren Daten. 72% der Patienten wurden mit Folsäure behandelt. Es ließen sich weder ein signifikanter Anstieg der Retikulozyten noch des Hämoglobinwerts in der Behandlungsgruppe feststellen.

Aufgrund der vorliegenden Daten sollte in Analogie zu den Patienten mit β Thalassämie major ein Folsäuredefizit bei den Patienten mit PK-Mangel ausgeschlossen werden. Falls ein Folsäuredefizit besteht, ist eine Behandlung mit Folsäure indiziert. Eine prophylaktische Behandlung mit Folsäure hat aber bei PK-Mangel keinen nachweisbaren Effekt auf den Hämoglobinwert.

Die Splenektomie ist eine Therapieoption für Patienten mit einem schweren PK-Mangel. Es ist bekannt, dass die durch den Enzymdefekt geschädigten Erythrozyten der Patienten mit PK-Mangel von Makrophagen der roten Pulpa der Milz phagozytiert werden und mit der Splenektomie dieser Prozess unterbrochen wird. Grace et al. 2019 empfehlen eine Splenektomie bei Patienten mit ausgeprägter Splenomegalie und hohem Risiko für eine Milzruptur sowie bei Patienten mit schwerer Anämie und regelmäßigen Transfusionen.

Bei 43% (12 von 28) der Patienten in dieser Arbeit wurde eine Splenektomie durchgeführt. Dies führte bei 75% (9 von 12) der Patienten zu einem Abfall der Transfusionshäufigkeit und zu einem Anstieg des durchschnittlichen Hämoglobinwerts. Ähnliche Daten zeigen sich auch in der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a). 59% der Patienten wurden splenektomiert, wobei dieser hohe Anteil im Vergleich zu unserer Studie durch die häufige Splenektomie in der Gruppe der Amischen erklärt werden kann (93% der Amischen wurden splenektomiert versus 50% der nicht Amischen). In der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) führte die Splenektomie bei 90% der Patienten zu einem Abfall der Transfusionshäufigkeit.

Die oben genannten Zahlen zeigen sehr überzeugend, dass die Splenektomie eine bewährte Therapiemöglichkeit bei Patienten mit PK-Mangel der Erythrozyten ist, obwohl sie nicht heilend wirkt.

Trotzdem besteht immer die Gefahr, dass die Splenektomie keine Befundbesserung bringt, wie bei 2 unserer Patienten. Sandoval et al. 1997 beschreiben einen Fall eines 4-jährigen Mädchens mit PK-Mangel, die nach einer partiellen Splenektomie mit Entfernung von 80% des Milzparenchyms keinerlei Verlängerung des Transfusionsintervalles zeigte. Es kam zu einer schnellen Regeneration des Milzparenchyms, so dass 6 Monate nach der partiellen Splenektomie die Milz erneut ihre Ausgangsgröße erreichte. Dann wurde eine totale Splenektomie durchgeführt, die zur Transfusionsunabhängigkeit der Patientin führte. In unserer Arbeit gab es auch eine Patientin mit einer partiellen Splenektomie, bei der das Transfusionsintervall im ersten Jahr nach der Splenektomie vom dreiwöchigen Abstand auf einem dreimonatlichen Abstand verlängert wurde. Jedoch verkürzte sich das Transfusionsintervall ein Jahr nach der Splenektomie wieder, so dass die Patientin im fünf- bis sechswöchigen Abstand transfusionspflichtig war.

In der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) wurden 3 Patienten mit einer partiellen Splenektomie eingeschlossen. Der Effekt der partiellen Splenektomie war nicht zufriedenstellend, da 2 Patienten nach Splenektomie immer noch eine schwere Anämie aufwiesen und ein Patient immer noch Transfusionen benötigte.

In Zusammenschau dieser Daten von kleinen Patientenzahlen gibt es Hinweise dafür, dass eine partielle Splenektomie ein hohes Risiko für ein Therapieversagen im Vergleich zur totalen Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel hat, obwohl sie mit hoher Wahrscheinlichkeit den Vorteil bietet, die immunologische Funktion der Milz zu erhalten.

Unsere Beobachtung wird von den Daten der PKD Natural History Study bestätigt (Grace et al. 2018a), so dass Grace et al. 2019 von einer partiellen Splenektomie abraten.

Eine große therapeutische Herausforderung für den betreuenden Arzt ist es, den richtigen Zeitpunkt für eine Splenektomie im Laufe der Erkrankung zu finden. Die Tatsache, dass die Patienten mit einem schweren PK-Mangel und somit häufiger Transfusionspflichtigkeit sehr jung sind, erschwert diese Entscheidung. In den USA wird eine Splenektomie insbesondere in der Population der Amischen in einem sehr jungen Alter durchgeführt (medianes Alter von 1,6 Jahren-Daten von Grace et al. 2018a). Bei den nicht Amischen war das mediane Alter bei Splenektomie 5 Jahre. In unserer Arbeit lag das mediane Alter bei Splenektomie bei 6 Jahren. Dies zeigt, dass Patienten mit PK-Mangel in Deutschland insgesamt in einem höheren Alter als Patienten aus anderen Ländern und insbesondere aus den USA splenektomiert werden.

Das Risiko einer Sepsis oder einer Thrombose nach Splenektomie muss in jedem Fall individuell gegen die Gefahr einer Eisenüberladung abgewogen werden. Es mag sein, dass diese 2 Komplikationen nach Splenektomie die Ursache für das zurückhaltende Vorgehen in Deutschland ist. Patienten nach Splenektomie haben ein hohes Risiko für eine Sepsis (OPSI-Syndrom) durch bekapselte Bakterien wie *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* und *Haemophilus influenza* (Iolascon et al. 2017). In unserer Arbeit wurden keine Patienten mit OPSI-Syndrom beobachtet, während 7% der Patienten der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a) eine Sepsis nach Splenektomie entwickelten. Es ist sehr interessant, dass die Inzidenz der Sepsis bei den Amischen (insgesamt 51 Patienten) nicht höher war als bei den nicht Amischen, obwohl sie in einem deutlich jüngeren Alter splenektomiert wurden (Grace et al. 2018a).

Bisharat et al. 2001 haben die Daten von 19680 Patienten nach Splenektomie mit einer durchschnittlichen Beobachtungszeit von 6,9 Jahren nach dem Eingriff analysiert. Die Autoren haben festgestellt, dass die Infektionsrate bei Kindern und erwachsenen Patienten ähnlich waren (3,3% versus 3,2%). Die Mortalität war allerdings bei den pädiatrischen Patienten höher (1,7% versus 1,3% bei den erwachsenen Patienten). Bei 6942 Patienten standen Daten zu der zugrunde liegenden Erkrankung zur Verfügung. Die höchste Sepsisrate wurde bei den Patienten mit β Thalassämie major und mit Sichelzellanämie beobachtet. In dieser Analyse wurden keine Patienten mit PK-Mangel oder anderen Erythrozytenenzymdefekten eingeschlossen, so dass aus diesen Daten unklar bleibt, ob bei Patienten mit PK-Mangel das Risiko einer OPSI genau so hoch ist wie bei Patienten mit β Thalassämie major oder Sichelzellanämie.

Luoto et al. 2016 haben Daten von 141 Kindern nach Splenektomie analysiert und haben eine Sepsis in 8% der Patienten beobachtet, wobei 91% dieser Patienten einen zugrunde liegenden Immundefekt hatten.

Bickenbach et al. 2013 haben die Daten von 381 Patienten analysiert, die eine hämatologische Erkrankung hatten und splenektomiert wurden. Davon hatten 16 Patienten eine hämolytische Anämie als Grunderkrankung. Die Autoren haben festgestellt, dass das Risiko für Komplikationen nach Splenektomie bei Patienten mit einer malignen hämatologischen

Grunderkrankung (z.B Lymphom) höher als bei Patienten mit einer benignen hämatologischen Grunderkrankung ist. Zudem sind sie zur Schlussfolgerung gekommen, dass Patienten mit einem niedrigen Hämoglobinwert (<9 g/dl) oder niedriger Thrombozytenzahl ($<50.000/\mu\text{l}$) präoperativ und Patienten älter als 65 Jahre mit einer höheren Wahrscheinlichkeit Komplikationen nach Splenektomie entwickeln werden.

Das Risiko einer OPSI ist höher bei Patienten jünger als 5 Jahre und im ersten Jahr nach dem Eingriff, wobei das Risiko lebenslang erhöht bleibt (Iolascon et al. 2017). Somit empfehlen die Autoren Iolascon et al. 2017 eine Splenektomie nur bei Patienten mit einem schweren PK-Mangel (schwere Anämie, Manifestation im Neugeborenen-oder Säuglingsalter, Transfusionsabhängigkeit) älter als 5 Jahre oder bei Patienten, die die Anämie schlecht tolerieren. Grace et al. 2019 empfehlen ebenfalls eine Splenektomie ab dem Alter von 5 Jahren, aber vor der Adoleszenz, um die Entwicklung einer schweren Eisenüberladung zu vermeiden. Da das Risiko für Cholezystolithiasis selbst bei splenektomierten Patienten mit PK-Mangel hoch ist, ist die aktuelle Empfehlung, eine Cholezystektomie in der gleichen Sitzung mit der Splenektomie durchzuführen (Iolascon et al. 2017).

Eine Splenektomie ist mit einem erhöhten Risiko für eine postoperative Thrombose assoziiert. Dies wird auch bei Patienten mit chronischen hämolytischen Anämien beobachtet. 17% (2 von 12) der Patienten in unserer Arbeit hatten eine Thrombose nach Splenektomie.

Die Ätiopathogenese dieses Phänomens ist multifaktoriell. Eine Splenektomie führt sehr häufig zu einer Erhöhung der Thrombozyten- und Leukozytenzahl, des Hämoglobinwerts, des Cholesterolspiegels und des C-reaktiven Proteins (CRP) (Crary und Buchanan 2009). All diese Faktoren werden unabhängig voneinander mit einer Hyperkoagulabilität assoziiert.

Das Thromboserisiko ist besonders hoch bei Patienten mit persistierender intravaskulärer Hämolyse nach Splenektomie (Crary und Buchanan 2009). Patienten nach Splenektomie haben ein erhöhtes Risiko für venöse Thromboembolien und pulmonale Hypertonie, haben aber kein eindeutig erhöhtes Risiko für arterielle Thrombosen (Crary und Buchanan 2009).

Taher et al. 2006 haben die Prävalenz von Thromboembolien und pulmonaler Hypertonie bei 8860 Patienten mit Thalassämie untersucht. 1,75% der Patienten hatten eine Thrombose und 32% dieser Patienten hatten rezidivierende Thrombosen. Das Risiko war besonders hoch bei Patienten mit Thalassämia intermedia (4%). Bei 94% dieser Patienten wurde eine Thrombose nach Splenektomie beobachtet.

Stamou et al. 2006 haben prospektiv 146 Patienten nach Splenektomie für eine durchschnittliche Beobachtungszeit von 22,6 Monaten untersucht. Um die Fragestellung einer Thrombose nach Splenektomie zu beantworten, haben die Autoren die Patienten mittels Dopplersonographie des Pfortadersystems und Bestimmung von Blutbild-, Fibrinogen- und D-Dimeren untersucht. Eine Pfortaderthrombose nach Splenektomie wurde bei 4,8% der Patienten diagnostiziert. Bei allen Patienten wurde die Thrombose in den ersten 2 Wochen nach Splenektomie beobachtet. 29% dieser Patienten hatten eine Thrombophilie. Ein Anstieg der Thrombozytenzahl $> 650.000/\mu\text{l}$ und eine große Milz (> 650 g) waren Risikofaktoren für

Pfortaderthrombose, so dass die Autoren in solchen Fällen empfehlen, eine prophylaktische Behandlung mit ASS in Betracht zu ziehen.

Die größte multizentrische Studie, die die Prävalenz der Thrombose nach Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel untersucht, ist die PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a), die eine Prävalenz von 11% zeigte. Chou und DeLoughery 2001 berichten von einer 37jährigen Patientin mit PK-Mangel, Thrombophlebitis und rezidivierenden pulmonalen Thromboembolien 36 Jahren nach Splenektomie. Die Thromboseinzidenz nach Splenektomie betrug bei unseren Patienten mit PK-Mangel 17% (2 von 12 Patienten). Ein Patient hatte eine Pfortaderthrombose und eine Patientin rezidivierende pulmonale Thromboembolien. Unsere Daten zeigen Ähnlichkeiten mit dem oben genannten Fallbericht von Chou und DeLoughery 2001 und mit den Daten von Grace et al. 2018a und unterstützen die Hypothese, dass das Thromboserisiko bei Patienten mit PK-Mangel nach Splenektomie erhöht ist. Aus diesem Grund ist eine Beobachtung der Patienten mit PK-Mangel nach Splenektomie mittels Dopplersonographie des Pfortadersystems und Bestimmung der D-Dimere in regelmäßigen Abständen sinnvoll und kann zur frühzeitigen Erkennung dieser lebensbedrohlichen Komplikation beitragen.

Cholezystolithiasis und Cholezystektomie

Die Cholezystolithiasis ist eine häufige Komplikation bei Patienten mit PK-Mangel. 43 % der Patienten in unserer Studie hatten Gallensteine versus 45% der Patienten der internationalen Studie (Grace et al. 2018a) und bei 32% unserer Patienten versus 40% der Patienten der internationalen Studie (Grace et al. 2018a) wurde eine Cholezystektomie durchgeführt. Das mediane Alter bei Cholezystektomie betrug 17,2 Jahre bei unseren Patienten und 15,1 Jahre in der PKD Natural History Study (Grace et al. 2018a). In der Studie von Zanella et al. 2005 wurden ähnliche Zahlen mit einem Cholezystektomienanteil von 25% berichtet. Somit ist eine Cholezystolithiasis eine nicht zu unterschätzende Komplikation bei PK-Mangel.

78 % (7 von 9) unserer Patienten die eine Cholezystektomie benötigten, hatten auch eine Splenektomie in der Anamnese. Das durchschnittliche Alter bei Cholezystektomie dieser Patienten war 13,6 Jahre, während es bei Splenektomie 12,8 Jahre war. Nur 29% der Patienten hatten eine simultane Cholezystektomie und Splenektomie (versus 21% der Patienten der PKD Natural History Study). Dies ist ein überraschendes Ergebnis und zeigt, dass viele unserer Patienten splenektomiert wurden und nach einer kurzen Zeit eine erneute Operation zwecks Cholezystektomie erfolgen musste. Dies mag daran liegen, dass viele Ärzte in Folge der Splenektomie eine Reduktion der Hämolyse erhoffen und dementsprechend die Splenektomie als Präventionsmaßnahme für eine Cholezystolithiasis gesehen wird. Eine simultane Cholezystektomie und Splenektomie hat für den Patienten den Vorteil der kürzeren kumulativen Dauer des stationären Aufenthaltes sowie einen Narkose-sparenden Effekt. Aktuelle Empfehlungen zufolge (Iolascon et al. 2017) sollte daher eine Cholezystektomie in der gleichen operativen Sitzung mit der Splenektomie erfolgen, da selbst bei splenektomierten Patienten mit PK-Mangel häufig Gallensteine diagnostiziert werden. Diese Empfehlung werden von unseren Daten unterstützt, da 71% der Patienten in unserer Arbeit, die beide Operationen benötigten (Splenektomie und Cholezystektomie), nach der Splenektomie auch

eine Cholezystektomie hatten. Ähnlich sind die Daten von Grace et al. 2018a, die eine Cholezystektomierate von 66% nach der Splenektomie zeigten.

Restenzymaktivität der PK-R bei Patienten mit PK-Mangel

Bei 68% (19 von 28) der Patienten in unserer Studie bestand eine erniedrigte Restenzymaktivität ($< 80\%$ im Vergleich zum Normwert). Der Mittelwert der Restenzymaktivität dieser Patienten lag bei 49% des Normwerts. 11% (3 von 28) der Patienten hatten eine normale Restenzymaktivität ($> 80\%$ im Vergleich zum Normwert). Bei 21% der Patienten (6 von 28) war die Restenzymaktivität zum Zeitpunkt des Einschlusses nicht bekannt.

Zanella et al. 2005 haben in einer Analyse von 61 Patienten mit PK-Mangel eine durchschnittliche Restenzymaktivität von 35% festgestellt. In einer Studie von Lakomek et al. 1992 von 54 Patienten mit PK-Mangel wurde bei allen Patienten mit einer schweren hämolytischen Anämie und PK-Mangel eine Restenzymaktivität $< 33\%$ festgestellt.

In dieser Arbeit wurde der Schweregrad der Anämie der Patienten mit PK-Mangel mit der prozentualen Restenzymaktivität der PK-R verglichen um festzustellen, ob eine schwere Anämie ($Hb < 8\text{ g/dl}$) mit einer deutlich erniedrigten ($\leq 50\%$) Restenzymaktivität der PK-R korreliert. In dieser Arbeit hatten 55 % (16 von 29) der Patienten eine schwere Anämie (Hämoglobinwert $< 8\text{ g/dl}$). Nur 31% (5 von 16) dieser Patienten hatten eine Restenzymaktivität der PK-R $\leq 50\%$ (Tabelle 9).

Folglich lässt sich bei den Patienten dieser Arbeit keine Korrelation zwischen einer schweren Anämie und einer deutlich erniedrigten Restenzymaktivität bei Patienten mit PK-Mangel feststellen. Es gibt verschiedene Ursachen dafür.

Patienten, die schon als Neugeborene transfusionspflichtig sind, benötigen häufig Transfusionen in kurzen Abständen. Eine Bestimmung der Restaktivität der PK-R bei diesen Patienten gestaltet sich oft als sehr anspruchsvoll, weil die Restenzymaktivität der transfundierten Fremderythrozyten in einem solchen Fall mitbestimmt wird und die prozentuale Restenzymaktivität der PK-R dann falsch zu hoch ist. Eine falsch zu hohe Restenzymaktivität der PK-R liegt auch bei Patienten vor, die chronisch transfusionspflichtig sind, wenn die Blutentnahme in kurzem Abstand nach der Transfusion erfolgt. Bei Patienten mit normaler oder leicht erniedrigter Restenzymaktivität der PK-R und hoher klinischer Wahrscheinlichkeit für einen PK-Mangel gibt es ein indirektes Zeichen, das auf die Erkrankung hinweist, die gleichzeitig deutlich höhere Enzymaktivität der anderen Enzymen der Erythrozyten (Titapiwatanakun et al. 2008). In Relation dazu gesehen ist die Restenzymaktivität der Pyruvatkinase dann deutlich erniedrigt. Bei diesen Patienten ist weitere Diagnostik mit Bestimmung der Restenzymaktivität der PK-R der Eltern und eine molekulargenetische Diagnostik erforderlich.

Eine andere Ursache für eine hohe PK-R Restenzymaktivität trotz PK-Mangel ist eine inadäquate Entfernung der Leukozyten und der Thrombozyten von der Blutprobe zum

Zeitpunkt der Bestimmung der PK-R (Koralkova et al. 2014; Grace et al. 2015). Es ist wahrscheinlich, dass von Leukozyten oder Thrombozyten Isoenzyme exprimiert werden, die fälschlicherweise als PK-R gemessen werden. Zudem ist eine Retikulozytose eine weitere Ursache für eine hohe PK-R Restenzymaktivität, weil die jungen Erythrozyten mehr PK-R exprimieren als die muren Erythrozyten. In diesem Fall ist aber die Restenzymaktivität der anderen erythrozytären Enzyme deutlich erhöht (Titapiwatanakun et al. 2008; Koralkova et al. 2014). Eine sehr niedrige Restenzymaktivität der PK-R ist in jedem Fall mit der Diagnose PK-Mangel vereinbar (Grace et al. 2015). Es besteht aber, selbst bei den Patienten mit einer niedrigen Restenzymaktivität (<50%) keine Korrelation mit der Schwere der Anämie (Koralkova et al. 2014). In unserer Arbeit gab es Patienten mit Restenzymaktivität unter 40%, die nicht regelmäßig transfundiert werden müssen.

In unserer Arbeit hatten 32% (9 von 28) der Patienten eine sehr niedrige Restenzymaktivität der PK-R (<50% im Vergleich zum Normwert). Davon hatten nur 44% (4 von 9) der Patienten eine schwere Anämie (Hb < 8 g/dl) und 56% (5 von 9) der Patienten eine milde Anämie (Hb >10 g/dl – Tabelle 12). Es handelt sich in dieser Arbeit um kleine Patientenzahlen (insgesamt 28 Patienten), trotzdem werden unsere Ergebnisse von der Literatur bestätigt (Zanella et al. 2005; Koralkova et al. 2014), dass eine niedrige Restenzymaktivität der PK-R keinen prognostischen Faktor für den Schweregrad der Anämie und somit auch den Schweregrad der Erkrankung bei Patienten mit PK-Mangel darstellt.

Molekulargenetische Diagnostik bei Patienten mit PK-Mangel

Bei allen Patienten (28 von 28) in unserer Studie war der molekulargenetische Befund bekannt. 39% (11 von 28) der Patienten waren homozygot und 61% (17 von 28) compound heterozygot. Die häufigste Mutation war c.1529 G>A. In der Literatur sind ähnliche molekulargenetische Befunde bei Patienten mit PK-Mangel beschrieben. Zanella et al 2007 beschrieben ebenfalls die Mutation 1529 G>A als die häufigste Mutation bei den Patienten in Zentraleuropa. In einer Publikation von Lakomek et al. 1997 wurden 29 Patienten mit PK-Mangel molekulargenetisch untersucht. 52% (15 von 29) dieser Patienten hatten ebenfalls die Mutation c.1529 G>A entweder im homozygoten oder im compound heterozygoten Status.

Bei unseren Patienten wurden 23 verschiedene Mutationen nachgewiesen. Die meisten Mutationen waren Missense Mutationen (19 von 23). 2 Patienten hatten eine Mutation im Intronbereich, die das mRNA Spleißen beeinflusst, 1 Patient hatte eine Nonsense Mutation, 1 Patient hatte eine Duplikation und 1 Patient eine Deletion. Der PK-Mangel ist eine Erkrankung mit einer großen klinischen und molekulargenetischen Heterogenität. Dass die häufigsten Mutationen bei Patienten mit PK-Mangel Missense Mutationen sind, wird von einem aktuellen Artikel aus der Literatur bestätigt. In einem Übersichtsartikel von Canu et al. 2016 wird der letzte Stand aller bekannten Mutationen im PKLR Gen zusammengefasst. Insgesamt waren zum Zeitpunkt dieser Publikation 256 Mutationen im PKLR Gen bekannt. 172 Missense Mutationen, 12 Nonsense Mutationen, 23 Deletionen, 8 Insertionen, 2 indels und 33 Intron- Mutationen und Mutationen in der Promoter Region.

Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp auf der Basis der Analyse einzelner Mutationen im PKLR-Gen

Ziel dieser Arbeit war unter anderem, nach möglichen Korrelationen zwischen Phänotyp und Genotyp zu suchen. Man kann den Phänotyp anhand von verschiedenen klinischen Kriterien definieren. Entscheidend ist jedoch, inwieweit die Patienten transfusionspflichtig sind. Das Ausmaß der Transfusionspflichtigkeit ist der Faktor, der für sekundäre Komplikationen verantwortlich ist und die weiteren therapeutischen Entscheidungen bestimmt. Die Patienten wurden in dieser Arbeit in 3 klinische Phänotypen unterteilt: schwere Erkrankung (chronisch transfusionspflichtiger Patient), moderate Erkrankung (Transfusion nur in der Neugeborenenzeit und bei akuten hämolytischen Triggerfaktoren / Hochrisiko Situationen, keine regelmäßigen Transfusionen), milde Erkrankung (keine Transfusionen).

Zanella et al. 2007 betonen, wie wichtig die Analyse und in vitro Repräsentation der mutierten PK-R ist, um die Thermostabilität und Funktion des Proteins beurteilen zu können. Die meisten Patienten mit PK-Mangel weisen einen compound heterozygoten Status für 2 verschiedene Mutationen im PKLR-Gen auf. Ein solcher Status führt zur Produktion von 2 verschiedenen PK-R Monomeren, so dass mehrere verschiedene PK-R Tetramere bei diesen Patienten produziert werden. Als Folge ist die in vitro Repräsentation des PK-R Moleküls nur bei Patienten mit homozygoten Mutationen möglich.

Mutationen bei schwerem Phänotyp

Mutation 1529G>A

61% (17 von 28) der Patienten in dieser Arbeit hatten einen schweren PK-Mangel. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung war bei diesen Patienten 2 Jahre. 71% (12 von 17) dieser Patienten hatten eine Splenektomie. 88% der Patienten (15 von 17) mit einem schweren PK-Mangel hatten einen Ikterus neonatorum und 88% (15 von 17) eine schwere Anämie (Hb < 8 g/dl) mit einem durchschnittlichen Hb von 6,8 g/dl. Die häufigste Mutation bei Patienten mit einem schweren Phänotyp war **c.1529 G>A** (41 % der Patienten mit schwerem Phänotyp). Zanella et al. 2005 haben die Thermostabilität und die Kinetik der mutierten Form der PK-R bei der Mutation **c.1529 G>A** analysiert und haben eine erheblich reduzierte Thermostabilität bei normaler Kinetik des Enzyms festgestellt, so dass ein schwerer bis moderater Phänotyp bei den Patienten mit der Mutation **c.1529 G>A** zu erwarten ist.

In einer anderen Studie haben Zanella et al. 2007 54 Patienten mit PK-Mangel untersucht. Davon hatten 25 Patienten einen schweren Phänotyp. Bei den meisten Patienten mit einem schweren Phänotyp wurde die Erkrankung im Durchschnitt mit 4 Jahren diagnostiziert und die Mehrzahl dieser Patienten hatte eine schwere Anämie mit einem durchschnittlichen Hämoglobinwert von 6,8 g/dl. 52% (13 von 25) der Patienten benötigten eine Splenektomie und 84% hatten einen Ikterus neonatorum. Somit sind die Daten bezüglich Alter bei Diagnosestellung, durchschnittlicher Hämoglobinwert, Splenektomie und Ikterus neonatorum mit den Daten unserer Studie übereinstimmend. Die Arbeit von Zanella et al. 2007 unterscheidet sich hinsichtlich der Definition des schweren Phänotyps (schwerer Phänotyp:

Hb \leq 8 g/dl und/oder >50 Transfusionen), was jedoch die Ergebnisse nicht zu beeinflussen scheint.

Mutation 994 G>A

Laut Zanella et al. 2007 sind die häufigsten Mutationen, die mit einem schweren Phänotyp korrelieren, Frameshift-Mutationen, Stopcodon-Mutationen, große Deletionen, Splicing Mutationen oder Missense Mutationen im aktiven Zentrum der PK-R. In der Arbeit von Zanella et al. 2007 bestand eine Korrelation zwischen der homozygoten Mutation **c.994 G>A** und einem schweren Phänotyp.

Perseu et al. 2010 berichteten von einem homozygoten Patienten für die Mutation **c.994 G>A**, der eine schwere neonatale Anämie zeigte, eine Austauschtransfusion benötigte und im Verlauf eine Splenektomie. In unserer Arbeit hatten alle Patienten mit **einer homozygoten Mutation 994 G>A** einen schweren Phänotyp. Die Mutation **c.994 G>A** hat als Folge eine erhebliche Reduktion der Stabilität der PK-R, weil sie den hydrophoben Kern des Enzyms beeinträchtigt und die katalytische Potenz reduziert (Zanella et al. 2005; Perseu et al. 2010).

Mutation 1594C>T

Die Mutation **c.1594 C>T**, die bei 3 von unseren Patienten mit einem schweren Phänotyp im compound heterozygoten Status nachgewiesen wurde, ist für einen schweren Phänotyp bekannt. Zanella et al. 2005 haben festgestellt, dass diese Mutation die allosterischen Eigenschaften der PK-R erheblich beeinträchtigt und zu einer Erniedrigung der Thermostabilität des Enzyms führt.

Stopcodon-Mutation 721 G>T

In unserer Patientengruppe gab es einen Patient mit der **Stopcodon-Mutation c.721 G>T**, der eine schwere Anämie mit einem Hb von 6,9 g/dl und einen Ikterus neonatorum hatte. Dieser Patient benötigte eine Splenektomie. Die Mutation **c.721 G>T** ist eine Stopcodon Mutation, die zu einem vorzeitigen Abbruch der Translation bei Aminosäure 241 der PK-R führt und dementsprechend schwere klinische Folgen hat (Zanella et al. 2005).

Deletionen und Duplikationen

Ein Patient (PKD26 aus Tabelle 15) hatte eine **Deletion** einer Base auf DNA Ebene, die zu einer Frameshift Mutation und einem schweren Phänotyp führte und ein weiterer Patient (PKD12 aus Tabelle 15) hatte eine **Duplikation**, die ebenso zu einer schweren Anämie mit einem Hb von 6,9 g/dl und einem Ikterus neonatorum führte.

Mutation 401 T>A

Es ist unklar, ob eine Korrelation der eher seltenen Missense Mutation **c.401 T>A** mit einem schweren Phänotyp besteht. Die mutierte Form der PK-R bei dieser Mutation wurde noch nicht hinsichtlich Thermostabilität und Funktion analysiert. Zwei Patienten in unserer Arbeit

wiesen die Mutation **c.401 T>A** auf, jeweils mit compound heterozygotem Status. Der Patient PKD7 (Tabelle 15) hat c.1529 G>A als zweite Mutation im PKLR Gen, die für einen schweren bis moderaten Phänotyp verantwortlich gemacht wird. Es bleibt unklar, ob die Mutation **c.401 T>A** auch die Funktion und die Thermostabilität der PK-R beeinträchtigt oder nicht. Der Patient PKD19 (Tabelle 15) hat als zweite Mutation (zusammen mit der Mutation c.401T>A) eine Mutation im Intronbereich, die das mRNA Spleißen beeinträchtigt und ebenfalls zu einem schweren Phänotyp führt, so dass auch bei diesem Patienten die Rolle der Mutation **c.401 T>A** unklar bleibt. Es gibt in der Literatur keine homozygoten Patienten mit der Mutation **c.401 T>A** und keine Daten zum Phänotyp eines publizierten Falls eines compound heterozygoten Patienten mit den Mutationen c.401 T>A und c.1456 C>T (Baronciani und Beutler 1993).

Mit Hilfe von Online Programmen ist es heutzutage möglich die Folgen von Missense Mutationen auf Proteinfunktionsebene zu analysieren. In unserer Arbeit wurden 2 verschiedene online Materialien 1) PolyPhen-2- <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/> und 2) Mutation Taster- www.mutationtaster.org verwendet, um die Folge von verschiedenen Mutationen unserer Patienten im PKLR Gen auf die Funktion der PK-R vorherzusagen. Die Mutation **c.401 T>A** führt zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz der PK-R mit einer Substitution von Valin durch Asparagin auf Position 134. Diese Mutation ist mit einer Sensitivität von 100% mit einer negativen Veränderung der Proteinfunktion vereinbar (PolyPhen-2). Insbesondere führt diese Mutation zu einem Verlust einer Proteinhelix (Position 124-139) und kann eventuell die allosterischen Eigenschaften des Enzyms verändern (Mutation Taster). Zusammenfassend ist folglich die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, dass die Mutation c.401 T>A mit einem schweren Phänotyp korreliert.

Mutationen bei moderatem Phänotyp

21% (6 von 28) der Patienten in dieser Arbeit hatten einen moderaten Phänotyp. Alle Patienten mit einem moderaten PK-Mangel in dieser Arbeit (Transfusionen nur in der Neugeborenenperiode oder bei akuten hämolytischen Triggerfaktoren) wurden im Kindesalter diagnostiziert. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung war 2,5 Jahre. 66% (4 von 6) dieser Patienten hatten einen Ikterus neonatorum und keiner dieser Patienten benötigte eine Splenektomie. Der durchschnittliche Hämoglobinwert bei allen Patienten dieser Gruppe war 9,6 g/dl (Tabelle 16). Die Patienten mit einem moderaten PK-Mangel hatten in der Neugeborenen- und Säuglingszeit alle einen schweren Verlauf der Erkrankung mit der Notwendigkeit von Transfusionen. Im Verlauf und bis zum Einschluss in diese Studie benötigten sie keine Transfusionen mehr. 50% (3 von 6) dieser Patienten waren homozygot für die häufigste Mutation **c.1529 G>A** und 50% (3 von 6) compound heterozygot für die Mutation **c.993 C>A** (Tabelle 16).

In einer Studie von Zanella et al. 2007 wurden 11 Patienten mit einem moderaten PK-Mangel untersucht. Diese Patienten wurden mit einem durchschnittlichen Alter bei Diagnosestellung von 25 Jahren deutlich später diagnostiziert im Vergleich zu unseren Patienten (Durchschnittsalter bei Diagnosestellung 2,5 Jahre). Das mag daran liegen, dass durch die Etablierung der molekulargenetischen Diagnostik in den letzten Jahren selbst Patienten, die

keinen schweren Phänotyp haben, deutlich früher diagnostiziert werden. Bei 36 % (4 von 11) dieser Patienten wurde eine Splenektomie durchgeführt, ein hoher Anteil im Vergleich zu unseren Patienten mit einem moderaten Phänotyp (keiner benötigte eine Splenektomie). Die Daten von Zanella et al. 2007 waren bezüglich Hämoglobinwert bei Patienten mit moderatem Phänotyp mit unseren Daten vergleichbar. Bei diesen Patienten war wie bei unseren Patienten auch die Mutation **c.1529 G>A** im homozygoten oder compound heterozygoten Status die häufigste Mutation (55% der Patienten). Die zweithäufigste Mutation in dieser Arbeit war **c.1456 C>T** im compound heterozygoten Status (27% der Patienten). Die Mutation **c.993 C>A** wurde im Gegensatz zu unserer Arbeit bei keinem von den 11 Patienten mit einem moderaten PK-Mangel nachgewiesen. Die Definition für einen moderaten PK-Mangel in der Arbeit von Zanella et al. 2007 war: Patienten mit einem Hb ≥ 8 g/dl und < 10 g/dl und/oder > 10 Transfusionen.

In der Literatur wird die Mutation **c.721 G>T** sowohl im homozygoten, als auch im compound heterozygoten Status für einen schweren PK-Mangel verantwortlich gemacht (Kugler et al. 2000; Jaouani et al. 2017). Die Mutation **c.721G>A** ist eine Stopcodon Mutation, die zu einer schweren Reduktion der mRNA in den Retikulozyten führt (Kugler et al. 2000). Das hat einen vorzeitigen Abbruch der Translation der PK-R bei Aminosäure 241 zur Folge. Dies erklärt auch den schweren klinischen Phänotyp unserer Patienten in der Neugeborenen- und Säuglingszeit, es bleibt aber unklar, warum diese zwei Patienten im Verlauf nur eine milde Anämie aufwiesen (siehe Tabelle 16, PKD3 und PKD10) und keine Transfusionen bis zum Einschluss in der Studie und auch in der Beobachtungszeit von 2 Jahren benötigten. Da die Patienten beim Abschluss der Studie 15 (PKD3) und 17 Jahre (PKD10) alt sind, sind die Patienten offensichtlich für eine sehr lange Zeit unabhängig von Transfusionen.

Die Patienten PKD3 und PKD10 (Tabelle 16) sind auch compound heterozygot für die Mutation **c.993 C>A**, die zu einem Austausch von Asparagin zum Glutamin führt. Das ist eine Mutation in der A Domäne der PK-R, die sich im aktiven Zentrum des Enzyms befindet (Manco et al. 1999). In der Literatur sind mehrere Fälle von compound heterozygoten Patienten mit der Mutation **c.993 C>A** zu finden (Zanella et al. 1997; Manco et al. 1999; Ferreira et al. 2000). Es gibt leider keine publizierten Fälle von homozygoten Patienten für die Mutation **c.993 C>A** im PKLR Gen, so dass sich keine Schlussfolgerung zur klinischen Relevanz der Mutation **c.993 C>A** ziehen lässt. 3 Fälle von compound heterozygoten Patienten für die Mutation **c.993 C>A** (Zanella et al. 1997; Manco et al. 1999) haben einen milden Phänotyp und sind transfusionsunabhängig. Es gibt aber einen Fall (Ferreira et al. 2000) von einem neugeborenen Mädchen mit Hydrops fetalis und fortbestehender Transfusionsabhängigkeit mit der Mutation **c.993 C>A**. Es scheint durchaus möglich, dass die Mutation **c.993 C>A** mit einem milden Phänotyp korreliert und dass unsere 2 Patienten durch die gleichzeitige Mutation **c.721G>T** einen moderaten Phänotyp entwickelten. Leider fehlen in der Literatur Daten, um diese Hypothese zu beweisen.

Mutationen bei mildem Phänotyp

18% (5 von 28) der Patienten in dieser Arbeit hatten einen milden Phänotyp. Das durchschnittliche Alter dieser Patienten bei Diagnosestellung war 14 Jahre. 40% (2 von 5) der Patienten in dieser Gruppe hatten einen Ikterus neonatorum. 80% (4 von 5) dieser Patienten hatten eine milde Anämie ($Hb >10 \text{ g/dl}$ und $\leq 12 \text{ g/dl}$) und 20% (1 von 5) eine moderate Anämie ($Hb 8-10 \text{ g/dl}$). Die häufigste Mutation in dieser Patientengruppe war die Missense Mutation **c.1456 C>T** (PKD6, PKD9, PKD23, Tabelle 17). In der Studie von Zanella et al 2007, bei der insgesamt 18 Patienten mit einem milden PK-Mangel untersucht wurden, wurde ebenfalls die Mutation **c.1456C>T** bei der Mehrzahl der Patienten mit einem milden PK-Mangel nachgewiesen (14 von 18 Patienten mit einem milden PK-Mangel). Alle Patienten mit einem milden Phänotyp hatten einen $Hb \geq 10 \text{ g/dl}$, nur 50% hatten einen Ikterus neonatorum und benötigten selten Transfusionen. Nur bei einem Patient wurde eine Splenektomie durchgeführt, weil dieser Patient initial die Diagnose einer hereditären Sphärozytose erhalten hatte. Somit sind diese Daten mit den Daten unserer Patienten mit einem milden Phänotyp vergleichbar.

Zanella et al. 2005 haben die Funktion der mutierten PK-R bei der Mutation **c.1456 C>T** analysiert und festgestellt, dass diese Form sogar stabiler als der Wildtyp der PK-R ist. Die katalytische Potenz ist zwar reduziert, aber die Kinetik des Enzyms ist unbeeinträchtigt, so dass ein milder Phänotyp bei den Patienten mit dieser Mutation zu erwarten ist.

Zusammenfassende Kommentare zu der Korrelation der einzelnen Mutationen zum Phänotyp

Die Mutation **1529 G>A** wird für einen moderaten bis schweren Phänotyp verantwortlich gemacht. Interessanterweise haben wir in dieser Arbeit einen homozygoten Patient für die Mutation **c.1529 G>A** ist, der einen milden Phänotyp hat. Somit gibt es in unserer Arbeit Patienten mit der homozygoten Mutation **1529 G>A** und unterschiedlichen Phänotypen, die mild, moderat bis zu schwer verlaufen. Die klinische Variabilität sehr hoch, so dass keine zuverlässige Vorhersage des Phänotyps bei bekannter Mutation möglich ist. Ähnlich waren auch die Ergebnisse von Lenzner et al. 1997 in einer molekularen Analyse von 29 Patienten mit PK-Mangel in Zentraleuropa. Die Patienten kamen aus Deutschland, England, Tschechien und der Slowakei. Die häufigste Mutation war **c.1529 G>A** und neun Patienten waren homozygot für diese Mutation. Diese Patienten hatten, so wie unsere Patienten, unterschiedliche Phänotypen, die mild, moderat oder schwer waren.

Zusätzliche Eigenschaften der Erythrozyten, wie die Funktion der anderen Enzyme der Glykolyse und des Pentosephosphatwegs, die Stabilität der Erythrozytenmembran sowie Hämoglobineigenschaften, spielen wahrscheinlich außerdem eine entscheidende Rolle für die Entwicklung des Phänotyps. Der Phänotyp kann zusätzlich von anderen Faktoren, wie Milzfunktion, ineffektiver Erythropoese und posttranslationaler Modifikation von Aminosäuren entscheidend beeinflusst werden (Zanella et al. 2007).

In der Literatur wurde bei 3 Patienten mit einem schweren Phänotyp eine Persistenz der fetalen M2 Isoform der Pyruvatkinase nachgewiesen (Kanno et al. 1994; Lenzner et al. 1997). Es wird vermutet, dass bei Patienten mit einem schweren Phänotyp die Expression der M2 Isoform den PK-R Mangel teilweise kompensiert und das Überleben dieser Patienten ermöglicht (Kanno et al. 1994; Lenzner et al. 1997).

Trotzdem gibt es einen publizierten Fall einer minderjährigen Patientin mit einem schweren PK-Mangel ohne Nachweis einer M2-Persistenz (Diez et al. 2005). Bei dieser Patientin ist es sekundär zu einer Retikulozytose und zu einem Anstieg der Erythroblasten gekommen. Bei diesen immaturren Erythrozyten kommt es aufgrund von PK-R Mangel zu einem Anstieg von 2,3-DPG, was wiederum zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve des Hämoglobins führt. Das hatte als Folge, dass die Patientin ihre Anämie besser tolerierte, so dass sie nach Splenektomie und trotz fehlendem Nachweis einer M2 Persistenz überleben konnte.

Zusammenfassend lässt sich aus unseren und den publizierten Daten ableiten, dass es bei Patienten mit PK-Mangel keine strenge Korrelation zwischen Phänotyp und Genotyp gibt. Die klinische Variabilität ist bei vielen Mutationen, wie bei der häufigsten Mutation c.1529 G>A, so hoch, dass der Genotyp an sich den klinischen Verlauf der Erkrankung nicht sicher vorhersagen kann.

Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp auf der Basis der Analyse der Mutationstypen und neue Therapieversuche des PK-Mangels

In den letzten Jahren gibt es Versuche eine kausale Therapie bei Patienten mit PK-Mangel zu entwickeln. Im Rahmen der DRIVE PK Studie (Phase II Studie) werden die Effekte von AG-348, eines allosterischen Aktivators der PK-R, auf die hämatologischen Parameter von Patienten mit PK-Mangel untersucht (Grace et al. 2016). AG-348 ist ein selektiver kleinmolekularer Aktivator der PK-R, der oral verabreicht wird. Er bindet an das defekte Enzym und aktiviert es. In der Studie wurden 25 transfusionsunabhängige erwachsene Patienten mit PK-Mangel in 3 Gruppen aufgeteilt: Patienten mit 2 Missense Mutationen (14 Patienten), Patienten mit 2 Non-Missense Mutationen (6 Patienten) und Patienten mit einer Missense- und einer Non-Missense Mutation (5 Patienten). Es wurde festgestellt, dass die meisten Patienten (68%) mit mindestens einer Missense Mutation einen Hb- Anstieg von > 1 g/dl unter der Therapie mit AG-348 zeigten. Keiner von den Patienten mit 2 Non-Missense Mutationen zeigte einen Hb-Anstieg von >1 g/dl.

Die oben genannte Arbeit kann ein Hinweis dafür sein, dass Patienten mit 2 Non-Missense Mutationen am schwersten betroffen sind. Ähnliche Daten wurden auch in der PKD Natural History Study publiziert (Grace et al. 2018a). 58% der Patienten in der Studie hatten 2 Missense Mutationen, 15% hatten zwei Non-Missense Mutationen und 27% eine Missense und eine Non-Missense Mutation (Grace et al. 2018a). Die Patienten mit 2 Non-Missense Mutationen zeigten einen deutlich schwereren Phänotyp als die Patienten mit mindestens einer Missense Mutation. Die Rate der splenektomierten Patienten älter als 5 Jahren war in der Gruppe mit 2 Non-Missense Mutationen 100% und nur 56% in der Gruppe mit 2

Missense Mutationen. Zudem benötigten die Patienten in der Gruppe mit 2 Non-Missense Mutationen mehr Transfusionen und hatten deutlich höhere Ferritinwerte (Grace et al. 2018a).

Aus diesem Grund wurden die Patienten in unserer Arbeit in 3 ähnlichen Gruppen aufgeteilt und es wurden die klinischen Charakteristika mit den Mutationstypen verglichen (Kapitel 4.19). Die meisten Patienten mit PK-Mangel in unserer Arbeit hatten 2 Missense Mutationen (75% der Patienten). 21% der Patienten hatten 1 Missense- und 1 Non-Missense Mutation und nur 4% hatten 2 Non-Missense Mutationen. Patienten mit PK-Mangel und mindestens 1 Non-Missense Mutation wiesen deutlich häufiger einen Neugeborenenikterus als Patienten ohne Non-Missense Mutationen auf (100% versus 62%). Der Anteil der Patienten mit einem schweren Phänotyp ist in der Gruppe mit mindestens 1 Non-Missense Mutation höher als in der Gruppe ohne Non-Missense Mutationen (67% versus 62%). Zu der Gruppe der Patienten mit mindestens 1 Non-Missense Mutationen gehören keine Patienten mit einem milden Phänotyp während der Anteil der Patienten mit einem milden Phänotyp in der Gruppe ohne Non-Missense Mutationen 19% beträgt. Leider gibt es in dieser Arbeit nur einen Patient mit 2 Non-Missense Mutationen (IVS8-9 (g.12041) A>G), so dass kein zuverlässiger Vergleich zu dieser Gruppe möglich ist.

Unsere Daten bestätigen die Daten der Literatur (Grace et al. 2018a), dass Patienten mit mindestens 1 Non-Missense Mutation eher einen schwereren Phänotyp aufweisen als Patienten ohne Non-Missense Mutationen, wobei es sich hierbei um kleine Patientenzahlen handelt.

Schwangerschaft bei Patienten mit PK-Mangel

In unserer Studie sind 30 % (3 von 10) der erwachsenen Patienten weiblich. Bei 2 dieser Patientinnen ist es zu spontanen Schwangerschaften gekommen. In der Literatur gibt es vereinzelte Publikationen über erfolgreiche Schwangerschaften bei PK-Mangel (Fanning und Hinkle 1985; Wax et al. 2007; Theodoridou et al. 2015).

Eine Schwangerschaft kann zur Verstärkung der Hämolyse und steigendem Transfusionsbedarf bei Patientinnen mit PK-Mangel führen. Es gibt Autoren, die während der Schwangerschaft prophylaktische Transfusionen empfehlen (Dolan et al. 2002). Ziel ist es, den Hämoglobinwert während der Schwangerschaft über 8 g/dl konstant zu halten, um die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr des Fötus zu gewährleisten. Eine solche Strategie kann während der Schwangerschaft zu einer Verkürzung des zeitlichen Intervalls zwischen den Transfusionen führen.

Ghidini und Korker 1998 berichten von einer Frau mit PK-Mangel und schwerer Anämie, die keine prophylaktischen Transfusionen erhalten hat. Diese Strategie führte zu keinerlei Komplikationen beim Fötus. Es ist nicht bekannt, ob bei den Schwangerschaften in unserer Patientengruppe prophylaktische Transfusionen durchgeführt wurden oder nicht. Zurzeit gibt es keine generellen Empfehlungen diesbezüglich in der Literatur und keine prospektiven Studien.

Bei schwangeren Frauen mit PK-Mangel ist eine Behandlung mit Eisen im Gegensatz zu schwangeren Frauen ohne zugrundeliegende Erkrankung kontraindiziert, da das Risiko der Verstärkung der Eisenüberladung durch die Eisentherapie besteht. Zudem ist die Chelattherapie in der Schwangerschaft problematisch. Die 3 verfügbaren Chelatbildner Deferasirox, Deferipron, Deferoxamin sind in der Schwangerschaft nicht zugelassen (Cario et al. 2015). Da während der Schwangerschaft der Transfusionsbedarf bei Patientinnen mit PK-Mangel oft steigt, ist bei Absetzen der Chelattherapie während der Schwangerschaft eher mit einer Verstärkung der Eisenüberladung nach der Schwangerschaft zu rechnen. Dolan et al. 2002 berichten von einer schwangeren Frau mit PK-Mangel und sekundärer Eisenüberladung bei regelmäßigem Transfusionsbedarf und inkonsequenter Durchführung der Chelattherapie vor der Schwangerschaft. In der Schwangerschaft wurde die Chelattherapie mit Deferasirox abgesetzt und es kam zu einer Verschlechterung der myokardialen Funktion und zu einem erheblichen Anstieg des Ferritins.

Deferoxamin zeigte in Tierstudien fetotoxische Effekte. Studien bei Menschen stehen nicht zur Verfügung, so daß das Medikament bei Schwangeren nicht zugelassen ist (Diamantidis et al. 2016). Diamantidis et al. 2016 berichten von 9 Schwangerschaften und Geburten von gesunden Kindern bei Frauen mit β Thalassämia major, die Deferasirox in der Frühschwangerschaft eingenommen haben, bevor sie erfahren haben, dass sie schwanger sind. Es wurden keine fetotoxischen Effekte beobachtet. Trotzdem raten die Produkthersteller von einer Einnahme in der Schwangerschaft ab. Studien zur Deferipron Einnahme liegen auch nicht vor, so dass ein teratogener Effekt des Medikaments in der Schwangerschaft nicht ausgeschlossen werden kann und die Einnahme bei Patientinnen mit Kinderwunsch als unsicher gilt.

Zusammenfassend ist die Durchführung einer Chelat-Therapie in der Schwangerschaft eine große Herausforderung, da die Wirkung der Chelatbildner auf den Fötus nicht vorherzusagen sind. Eine genaue Nutzen-Risiko Abwägung ist erforderlich im Falle einer Fortsetzung der Therapie in der Schwangerschaft. Eine gründliche Aufklärung der Frau mit PK-Mangel über die möglichen Risiken der Therapie und der Schwangerschaft als Risikosituation für die Verschlechterung einer vorhandenen Eisenüberladung ist unverzichtbar.

6. Zusammenfassung

Der Pyruvatkinasemangel der Erythrozyten ist der häufigste Enzymdefekt der anaeroben Glykolyse der Erythrozyten. Es handelt sich um eine seltene autosomal rezessive Erkrankung, die durch Mutationen im PKLR Gen verursacht wird und sich klinisch als nicht sphärozytäre hämolytische Anämie manifestiert.

Die vorliegende Arbeit ist die bis jetzt größte deutsche Studie über Patienten mit PK-Mangel, in der Daten von 28 Patienten mit PK-Mangel retrospektiv sowie prospektiv über 2 Jahre gesammelt und analysiert wurden. Ziel dieser Arbeit war es die Lebensqualität, sowie die klinischen-, biochemischen- und molekulargenetischen Merkmalen von Patienten mit PK-Mangel in Deutschland zu erfassen.

In diese Arbeit wurden nur Patienten mit einem molekulargenetisch homozygoten oder compound heterozygoten PK Mangel eingeschlossen. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung lag bei 6,9 Jahren. Erwartungsgemäß sind Patienten mit einem milden Phänotyp deutlich älter bei Diagnosestellung (mittleres Alter 14 Jahre) als Patienten mit einem schweren oder moderaten Phänotyp (2 bzw. 2,5 Jahre).

Unsere Arbeit ist die erste Studie, die die Lebensqualität von minderjährigen Patienten mit PK-Mangel analysiert. Volljährige Patienten mit PK-Mangel ohne Komorbiditäten haben eine gute Lebensqualität, während erwachsene Patienten mit PK-Mangel und Komorbiditäten eine moderate Einschränkung ihrer Lebensqualität aufweisen. Die Lebensqualität der minderjährigen Patienten wurde mittels des PedsQl 4.0 Fragebogen analysiert. Damit konnte der HRQoL (Health Related Quality of Life Index) der Kinder mit PK-Mangel sowohl im körperlichen als auch im psychosozialen Bereich berechnet werden. Die Kinder ≥ 5 Jahre hatten im Durchschnitt einen guten HRQoL, während die Kinder <5 Jahre im Durchschnitt einen moderaten HRQoL aufwiesen. Die Unterschiede zwischen diesen beiden Altersgruppen waren statistisch nicht signifikant.

Die meisten Patienten (57%) hatten eine schwere Anämie ($Hb < 8$ g/dl), gefolgt von milder (29%) und moderater Anämie (11%). 71% der Patienten hatten einen Ikterus neonatorum und benötigten eine Therapie mit Phototherapie und/oder Austauschtransfusion. Eine Austauschtransfusion in der Neugeborenenzeit scheint ein sehr sensibler Parameter für die Entwicklung eines schweren PK-Mangels zu sein, so dass im Falle einer schweren indirekten Hyperbilirubinämie mit Notwendigkeit einer Austauschtransfusion der Neonatologe differenzialdiagnostisch einen PK-Mangel in Erwägung ziehen sollte.

64% der Patienten wurden in der Neugeborenenzeit transfundiert und 86% hatten mindestens eine Transfusion in ihrem Leben. Der Anteil unserer Patienten, die chronisch transfusionspflichtig waren (≥ 6 Transfusionen in 12 Monaten), ist mit 54% hoch.

Komplikationen des PK-Mangels sind Eisenüberladung mit der Notwendigkeit einer Chelat-Therapie, Cholelithiasis und Leberzirrhose. Eine Eisenüberladung mit der Notwendigkeit einer Chelat-Therapie (Ferritin >1000 ng/ml, pathologische Lebereisenmessung oder

Herzeisenmessung) lag bei 47% der Patienten vor. Die Höhe des Ferritinwerts korrelierte nicht gut mit dem Grad der Organsiderose. Die Chelat-Therapie sollte nicht ausschließlich anhand des Ferritinwerts gesteuert werden. Eine Lebereisenmessung ist zusätzlich erforderlich bei Patienten mit 10-20 kumulativen Transfusionen, um das Ausmaß der Organsiderose zu erfassen und sollte zusammen mit dem Ferritin genutzt werden, um die Dosierung der Chelat-Therapie zu steuern.

Eine Cholelithiasis wurde bei 43% der Patienten beobachtet und bei 32% wurde therapeutisch eine Cholezystektomie durchgeführt. Aktuellen Empfehlungen zufolge soll eine Cholezystektomie in der gleichen Sitzung mit einer Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel erfolgen.

Die Diagnose des PK Mangels kann mittels Bestimmung der Restenzymaktivität der Pyruvatkinase in den Erythrozyten und/oder mittels Sequenzierung des PKLR Gens gestellt werden. Die mittlere Restenzymaktivität der Pyruvatkinase unserer Patienten lag bei 49% der Normalaktivität. Die Restenzymaktivität der Pyruvatkinase korreliert nicht mit dem Hämoglobinwert und die Schwere des Phänotyps des Patienten.

39% der Patienten waren homozygot und 61% compound heterozygot für Mutationen im PKLR Gen. Die häufigste Mutation war c.1529G>A (39% der Patienten). Bei Patienten mit PK-Mangel gibt es keine strenge Korrelation zwischen Phänotyp und Genotyp. Die klinische Variabilität ist bei vielen Mutationen wie bei der häufigsten Mutation c.1529 G>A so hoch, dass der Genotyp nicht den klinischen Verlauf der Erkrankung vorhersagen kann. Anhand unserer Daten lässt sich vermuten, dass Patienten mit mindestens 1 Non-Missense Mutation eher einen schwereren Phänotyp aufweisen als Patienten ohne Non-Missense Mutationen. Patienten mit PK-Mangel und mindestens 1 Non-Missense Mutation entwickeln deutlich häufiger einen Neugeboreneikterus als Patienten ohne Non-Missense Mutationen (100% versus 62%) und hatten häufiger einen schweren Phänotyp (67% versus 62%).

Es gibt zurzeit keine kausale Therapie für den PK-Mangel. Die Splenektomie kann zu einem Anstieg des mittleren Hämoglobinwerts und zu einer Verlängerung des Transfusionsintervalls führen. Eine Splenektomie wurde bei 43% unserer Patienten durchgeführt. Das mittlere Alter bei Splenektomie lag bei 9,7 Jahre. Nach der Splenektomie ist es bei 75% dieser Patienten zu einem Abfall der Transfusionshäufigkeit und zu einem Anstieg des durchschnittlichen Hämoglobinwerts gekommen. Der durchschnittliche Hämoglobinanstieg nach der Splenektomie war 1,7 g/dl. Somit ist die Splenektomie eine mögliche therapeutische Option, um das Transfusionsintervall zu verlängern. Diese Therapie erhöht aber das Thromboserisiko.

Moderne kurative Therapieansätze für den PK-Mangel sind die allogene Stammzeltransplantation, die Gentherapie sowie medikamentöse Ansätze in Form von allosterischen Aktivatoren der Pyruvatkinase (AG 348 und AG 519). Keine dieser Therapieoptionen ist im Moment für die Erkrankung zugelassen. Studien mit allosterischen Aktivatoren der Pyruvatkinase erfolgen derzeit. Es bleibt noch offen, ob die Verbesserung dieser Therapiemethoden in der Zukunft zu einer Verbesserung der Lebenssituation von Patienten mit dieser seltenen kongenitalen hämolytischen Anämie führen wird.

**Ethik-Kommission bei der
Landesärztekammer Hessen**

Landesärztekammer Hessen · Im Vogelsgesang 3 · 60488 Frankfurt am Main

| | |
|---|---|
| Persönlich! Vertraulich! Klinikum Kassel GmbH Klinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie Dr. Nina Kollmar Postfach 10 36 67 34112 Kassel | Im Vogelsgesang 3 60488 Frankfurt am Main Postfach 90 06 69 60446 Frankfurt am Main Telefon (069) 97672-119 Telefax (069) 97672-377 E-Mail: ethikkommission@laekh.de Internet: www.laekh.de |
|---|---|

| | | |
|-------------|---|---------------------|
| Ihr Zeichen | (bitte immer angeben) Unser Zeichen III/1/ewa MC 169/2014 | Datum 04.08.2014 |
|-------------|---|---------------------|

**Teilnahme von Prüfarzten aus dem Bereich der Landesärztekammer Hessen an dem
Forschungsvorhaben:
Pyruvatkinase-Mangel (PKD)-Longitudinalstudie**

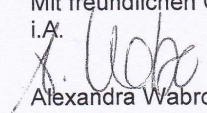
Ihr Schreiben vom 01.07.2014, hier eingegangen am 07.07.2014


Sehr geehrte Frau Dr. Kollmar,

nach § 15 Abs. 1 S. 1 der Berufsordnung für die Ärztinnen und Ärzte in Hessen muss sich der Arzt vor der Durchführung biomedizinischer Forschung am Menschen und epidemiologischen Forschungsvorhaben durch eine bei der Ärztekammer oder bei einem Medizinischen Fachbereich gebildete Ethik-Kommission über die mit seinem Vorhaben verbundenen berufsethischen und berufsrechtlichen Fragen beraten lassen, sofern das betreffende Projekt nicht bereits durch eine der vorgenannten Ethik-Kommissionen beraten wurde.

Mit dem Forschungsvorhaben hat sich bereits die Ethik-Kommission der Technischen Universität München befasst, so dass mit der Vorlage des Votums dieser Ethik-Kommission vom 22.04.2014 die berufsrechtliche Pflicht zur Anrufung von Ethik-Kommissionen nach § 15 Abs. 1 S. 1 der Berufsordnung für die Ärztinnen und Ärzte in Hessen für die an der Studie teilnehmenden Prüfarzte aus dem Bereich der Landesärztekammer Hessen erfüllt ist.

Die Ethik-Kommission bei der Landesärztekammer Hessen hat beschlossen, keine SAE-Meldungen zu bearbeiten, wenn sie nicht die erstvotierende Ethik-Kommission ist. Sie geht davon aus, dass die erstberatende Ethik-Kommission die SAE-Meldungen überprüft. Wir benötigen daher für diese Studie keine SAE-Meldungen.

Mit freundlichen Grüßen
i.A.

Alexandra Wabro
Geschäftsstelle der Ethik-Kommission


18.8.14

6.2 Fragebögen

6.2.1. Fragebogen EQ-5D-5L

PKD NHS: EuroQol
Study ID: _____
Date: _____



Gesundheitsfragebogen

Deutsche Version für Deutschland

(German version for Germany)



PKD NHS: EuroQol

Study ID: _____

Date: _____

Bitte kreuzen Sie unter jeder Überschrift DAS Kästchen an, das Ihre Gesundheit HEUTE am besten beschreibt.

BEWEGLICHKEIT / MOBILITÄT

Ich habe keine Probleme herumzugehen

Ich habe leichte Probleme herumzugehen

Ich habe mäßige Probleme herumzugehen

Ich habe große Probleme herumzugehen

Ich bin nicht in der Lage herumzugehen

FÜR SICH SELBST SORGEN

Ich habe keine Probleme, mich selbst zu waschen oder anzuziehen

Ich habe leichte Probleme, mich selbst zu waschen oder anzuziehen

Ich habe mäßige Probleme, mich selbst zu waschen oder anzuziehen

Ich habe große Probleme, mich selbst zu waschen oder anzuziehen

Ich bin nicht in der Lage, mich selbst zu waschen oder anzuziehen

ALLTÄGLICHE TÄTIGKEITEN (z. B. Arbeit, Studium, Hausarbeit, Familien- oder Freizeitaktivitäten)

Ich habe keine Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

Ich habe leichte Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

Ich habe mäßige Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

Ich habe große Probleme, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

Ich bin nicht in der Lage, meinen alltäglichen Tätigkeiten nachzugehen

SCHMERZEN / KÖRPERLICHE BESCHWERDEN

Ich habe keine Schmerzen oder Beschwerden

Ich habe leichte Schmerzen oder Beschwerden

Ich habe mäßige Schmerzen oder Beschwerden

Ich habe starke Schmerzen oder Beschwerden

Ich habe extreme Schmerzen oder Beschwerden

ANGST / NIEDERGESCHLAGENHEIT

Ich bin nicht ängstlich oder deprimiert

Ich bin ein wenig ängstlich oder deprimiert

Ich bin mäßig ängstlich oder deprimiert

Ich bin sehr ängstlich oder deprimiert

Ich bin extrem ängstlich oder deprimiert

PKD NHS: EuroQol

Study ID: _____

Date: _____

ξ Wir wollen herausfinden, wie gut oder schlecht Ihre Gesundheit HEUTE ist.

ξ Diese Skala ist mit Zahlen von 0 bis 100 versehen.

ξ 100 ist die beste Gesundheit, die Sie sich vorstellen können.

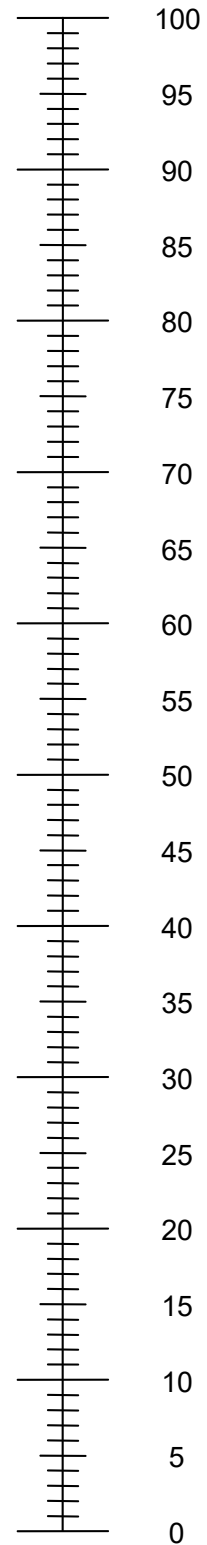
0 (Null) ist die schlechteste Gesundheit, die Sie sich vorstellen können.

ξ Bitte kreuzen Sie den Punkt auf der Skala an, der Ihre Gesundheit HEUTE am besten beschreibt.

ξ Jetzt tragen Sie bitte die Zahl, die Sie auf der Skala angekreuzt haben, in das Kästchen unten ein.

IHRE GESUNDHEIT HEUTE =

Beste Gesundheit, die Sie sich vorstellen können



Schlechteste Gesundheit, die

Sie sich vorstellen können

6.2.2. Fatigue-Short Form 7a

Bitte beantworten Sie die folgenden Fragen, indem Sie die entsprechende Zahl ankreuzen.

Im Laufe der letzten 7 Tage....

| | Nie | Selten | Manchmal | Häufig | Immer |
|--|-----|--------|----------|--------|-------|
| Wie oft waren Sie müde? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft hatten Sie das Gefühl, dass Sie erschöpft sind? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft hatten Sie keine Energie mehr? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft waren Sie so müde, dass Sie Schwierigkeiten bei der Arbeit (auch zu Hause) hatten? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft waren Sie so müde, um klar zu denken? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft waren Sie so müde, um sich zu duschen oder sich zu baden? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Wie oft hatten Sie genug Energie, um anstrengenden Sport zu treiben? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

6.2.3 FACT-An Form

PKD Natural History Study
 FACT-An FORM
 Case number: _____
 Date Completed (mm/dd/yyyy): ___/___/_____

Nachfolgend finden Sie eine Liste von Aussagen, die von anderen Personen mit Ihrer Krankheit für wichtig befunden wurden. **Bitte geben Sie jeweils an, wie sehr jede der folgenden Aussagen im Laufe der letzten 7 Tage auf Sie zugetroffen hat, indem Sie die entsprechende Zahl ankreuzen.**

| <u>KÖRPERLICHES WOHLBEFINDEN</u> | | Überhaupt nicht | Ein wenig | Mäßig | Ziemlich | Sehr |
|---|--|-----------------|-----------|-------|----------|------|
| GP 1 | Mir fehlt es an Energie | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 2 | Mir ist übel | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 3 | Wegen meiner körperlichen Verfassung habe ich Schwierigkeiten, den Bedürfnissen meiner Familie gerecht zu werden | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 4 | Ich habe Schmerzen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 5 | Die Nebenwirkungen der Behandlung machen mir zu schaffen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 6 | Ich fühle mich krank..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GP 7 | Ich muss zeitweilig im Bett bleiben | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| <u>VERHÄLTNIS ZU FREUNDEN, BEKANNTEN UND IHRER FAMILIE</u> | | Überhaupt nicht | Ein wenig | Mäßig | Ziemlich | Sehr |
|---|---|-----------------|-----------|-------|----------|------|
| GS 1 | Ich stehe meinen Freunden nahe | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GS 2 | Ich bekomme seelische Unterstützung von meiner Familie... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GS 3 | Ich bekomme Unterstützung von meinen Freunden..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GS 4 | Meine Familie hat meine Krankheit akzeptiert | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GS 5 | Ich bin damit zufrieden, wie wir innerhalb meiner Familie über meine Krankheit reden | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GS 6 | Ich fühle mich meinem Partner/meiner Partnerin oder der Person, die mir am nächsten steht, eng verbunden..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

PKD Natural History Study
FACT-An FORM

Case number: _____

Date Completed (mm/dd/yyyy): ____ / ____ / _____

Q1

Beantworten Sie bitte die folgende Frage unabhängig davon, inwieweit Sie zurzeit sexuell aktiv sind. Wenn Sie die Frage lieber nicht beantworten möchten, kreuzen Sie das nebenstehende Kästchen an und fahren Sie mit dem nächsten Abschnitt fort.

GS

7

Ich bin mit meinem Sexualleben zufrieden..... 0 1 2 3 4

PKD Natural History Study
 FACT-An FORM
 Case number: _____
 Date Completed (mm/dd/yyyy): ____ / ____ / _____

Bitte geben Sie jeweils an, wie sehr jede der folgenden Aussagen im Laufe der letzten 7 Tage auf Sie zugefallen hat, indem Sie die entsprechende Zahl ankreuzen.

SEELISCHES WOHLBEFINDEN

| | | Überhaupt nicht | Ein wenig | Mäßig | Ziemlich | Sehr |
|------|---|-----------------|-----------|-------|----------|------|
| GE 1 | Ich bin traurig | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GE 2 | Ich bin damit zufrieden, wie ich meine Krankheit bewältige | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GE 3 | Ich verliere die Hoffnung im Kampf gegen meine Krankheit..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GE 4 | Ich bin nervös..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GE 5 | Ich mache mir Sorgen über den Tod..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GE 6 | Ich mache mir Sorgen, dass sich mein Zustand verschlechtern wird..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

FUNKTIONSFÄHIGKEIT

| | | Überhaupt nicht | Ein wenig | Mäßig | Ziemlich | Sehr |
|------|---|-----------------|-----------|-------|----------|------|
| GF 1 | Ich bin in der Lage zu arbeiten (einschließlich Arbeit zu Hause)..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 2 | Meine Arbeit (einschließlich Arbeit zu Hause) füllt mich aus | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 3 | Ich kann mein Leben genießen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 4 | Ich habe mich mit meiner Krankheit abgefunden | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 5 | Ich schlafe gut | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 6 | Ich kann meine Freizeit genießen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| GF 7 | Ich bin derzeit mit meinem Leben zufrieden..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

PKD Natural History Study
 FACT-An FORM
 Case number: _____
 Date Completed (mm/dd/yyyy): ____ / ____ / _____

Bitte geben Sie jeweils an, wie sehr jede der folgenden Aussagen im Laufe der letzten 7 Tage auf Sie zugefallen hat, indem Sie die entsprechende Zahl ankreuzen.

| ZUSÄTZLICHE FAKTOREN | | Überhaupt nicht | Ein wenig | Mäßig | Ziemlich | Sehr |
|-----------------------------|---|------------------------|------------------|--------------|-----------------|-------------|
| HI 7 | Ich bin erschöpft..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| HI 12 | Ich fühle mich insgesamt schwach..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 1 | Ich fühle mich lustlos (ausgelaugt) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 2 | Ich bin müde..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 3 | Es fällt mir schwer, etwas <u>anzufangen</u> , weil ich müde bin..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 4 | Es fällt mir schwer, etwas <u>zu Ende zu führen</u> , weil ich müde bin..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 5 | Ich habe Energie..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 6 | Ich habe Schwierigkeiten beim Gehen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 7 | Ich bin in der Lage, meinen gewohnten Aktivitäten nachzugehen (Beruf, Einkaufen, Schule, Freizeit, Sport usw.)... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 8 | Ich habe das Bedürfnis, tagsüber zu schlafen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 9 | Mir ist schwindlig | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 10 | Ich bekomme Kopfschmerzen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| B 1 | Ich leide unter Atemnot..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 11 | Ich habe Schmerzen im Brustkorb | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 12 | Ich bin zu müde, um zu essen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| BL 4 | Ich habe Interesse an Sex | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 13 | Ich habe Lust, meinen gewohnten Aktivitäten nachzugehen (Beruf, Einkaufen, Schule, Freizeit, Sport usw.) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| An 14 | Ich brauche Hilfe bei meinen gewohnten Aktivitäten (Beruf, Einkaufen, Schule, Freizeit, Sport usw.) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

6.2.4.Peds FACIT-F Form

PKD Natural History Study

Peds FACIT-F FORM

Case number: _____

Date Completed (mm/dd/yyyy): ___/___/_____

Pädiatrische funktionale Beurteilung der Behandlung chronischer Erkrankungen – Erschöpfung

Nachfolgend findest du eine Liste von Aussagen, die von anderen Personen mit deiner Krankheit für wichtig befunden wurden. **Bitte gib jeweils an, wie sehr jede der folgenden Aussagen in den letzten 7 Tagen auf dich zugetroffen hat, indem du die entsprechende Zahl ankreuzt.**

| | | Nie | Selten | Manchmal | Meistens | Immer |
|------|---|-----|--------|----------|----------|-------|
| pF1 | Ich bin müde | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF2 | Ich habe Energie (oder Kraft)..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF3 | Ich konnte zu Hause die üblichen Dinge machen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF4 | Es fiel mir schwer, etwas <u>anzufangen</u> , weil ich zu müde war | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF5 | Es fiel mir schwer, etwas <u>zu Ende zu führen</u> , weil ich zu müde war | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF6 | Ich musste tagüber schlafen | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF7 | Es hat mich gestört, dass ich zu müde war, um die Dinge zu tun, die ich machen wollte | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF8 | Weil ich müde war, ist es mir schwergefallen, so viel mit meinen Freunden zu spielen oder mit ihnen wegzugehen, wie ich wollte..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF9 | Ich brauchte Hilfe, um zu Hause die üblichen Dinge zu machen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF10 | Ich fühle mich schwach | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF11 | Ich war zu müde, um zu essen..... | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF12 | Müde zu sein machte mich traurig | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| pF13 | Müde zu sein machte mich wütend | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

6.2.5. PedsQL 4.0

| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

ELTERNFRAGEBOGEN für KLEINKINDER (2-4 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite finden Sie eine Liste von Dingen, die möglicherweise für **Ihr Kind** ein Problem darstellen. Bitte sagen Sie uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN ein Problem für Ihr Kind** waren, indem Sie die zutreffende Zahl ankreuzen:

- 0 es war **nie** ein Problem
- 1 es war **fast nie** ein Problem
- 2 es war **manchmal** ein Problem
- 3 es war **häufig** ein Problem
- 4 es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Sie eine Frage nicht verstehen, bitten Sie um Hilfe.

Hatte Ihr Kind in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten**?

| PROBLEME IM KÖRPERLICHEN BEREICH MEIN KIND | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme beim Gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme beim Rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Probleme beim Spielen und bei körperlichen Aktivitäten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Probleme etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme beim Baden in der Badewanne. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. ... hatte Probleme beim Aufräumen seiner Spielsachen mitzuhelfen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. ... hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. ... war schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM EMOTIONALEN BEREICH MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... machte sich Sorgen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN KINDERN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme beim Spielen mit anderen Kindern. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme, weil andere Kinder nicht mit ihm spielen wollten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... wurde von anderen Kindern gehänselt. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... konnte nicht das tun, was andere Kinder in seinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme beim Spielen mit anderen Kindern mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

(Bitte füllen Sie diesen Teil nur aus, wenn Ihr Kind von einer Tagesmutter betreut wird oder bereits einen Hort oder den Kindergarten besucht)

| PROBLEME IN DER TAGESBETREUUNG/IM KINDERGARTEN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Schwierigkeiten an den gleichen Aktivitäten teilzunehmen wie andere Kinder in seinem Alter. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... konnte nicht hingehen, weil es ihm nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... konnte nicht hingehen, weil es beim Arzt oder im Krankenhaus war. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

FRAGEBOGEN für KINDER (5-7 Jahre)

Anleitung für den Interviewer:

Ich werde Dich jetzt zu einigen Dingen befragen, die für manche Kinder schwer oder schlimm sein können. Ich möchte von Dir wissen, wie schwer oder schlimm diese Dinge für Dich sind.

Zeigen Sie dem Kind die Antworttafel und deuten Sie beim Vorlesen auf die entsprechenden Gesichter.

Wenn es überhaupt nicht schwer oder schlimm für Dich ist, dann zeige bitte auf das lachende Gesicht.

Wenn es manchmal schwer oder schlimm für Dich ist, dann zeige bitte auf das mittlere Gesicht.

Wenn es sehr schwer oder schlimm für Dich ist, dann zeige bitte auf das schlecht gelaunte Gesicht.

Ich lese Dir nun die Fragen vor. Als Antwort zeigst Du bitte auf eines der Gesichter, je nachdem, wie schwer oder schlimm das für Dich ist. Probieren wir einmal ein Beispiel:

| | überhaupt nicht | manchmal | sehr |
|--|--------------------|----------|------|
| Ist es schwer für Dich mit den Fingern zu schnippen? | ☺ | ☹ | ☠ |

Bitten Sie das Kind mit den Fingern zu schnippen, damit Sie sehen, ob es die Frage richtig beantwortet hat. Wiederholen Sie die Frage, wenn Reaktion und Antwort des Kindes nicht zusammenpassen.

Denk nun daran, wie es Dir in den letzten Wochen gegangen ist. Hör bitte genau zu, wenn ich Dir die Fragen stelle und sag mir bei jeder Frage, wie das bei Dir war.

Nachdem Sie die jeweilige Frage gestellt haben, zeigen Sie auf die Antworttafel. Wenn das Kind zögert und nicht zu verstehen scheint, wie es antworten soll, lesen Sie ihm die drei Antwortmöglichkeiten vor und zeigen dabei auf das jeweilige Gesicht.

| PROBLEME IM KÖRPERLICHEN BEREICH | überhaupt nicht | manchmal | sehr |
|---|-----------------|----------|------|
| 1. Ist es schwer für Dich zu gehen? | 0 | 2 | 4 |
| 2. Ist es schwer für Dich zu rennen? | 0 | 2 | 4 |
| 3. Ist es schwer für Dich beim Sport mitzumachen? | 0 | 2 | 4 |
| 4. Ist es schwer für Dich etwas Großes aufzuheben? | 0 | 2 | 4 |
| 5. Ist es schwer für Dich zu baden oder zu duschen? | 0 | 2 | 4 |
| 6. Ist es schwer für Dich zuhause zu helfen (z.B. Deine Spielsachen aufzuräumen)? | 0 | 2 | 4 |
| 7. Hast Du Schmerzen gehabt? (<i>Wo?</i>) | 0 | 2 | 4 |
| 8. Bist Du zu müde zum Spielen gewesen? | 0 | 2 | 4 |

Bitte denke daran, dass Du mir sagst, wie das in den letzten Wochen bei Dir war.

| PROBLEME IM EMOTIONALEN BEREICH | überhaupt nicht | manchmal | sehr |
|--|-----------------|----------|------|
| 1. Hast Du Angst gehabt? | 0 | 2 | 4 |
| 2. Bist Du traurig gewesen? | 0 | 2 | 4 |
| 3. Bist Du sauer gewesen? | 0 | 2 | 4 |
| 4. Hast Du Schwierigkeiten beim Schlafen gehabt? | 0 | 2 | 4 |
| 5. Hast Du Dir Sorgen gemacht, was mit Dir passieren wird? | 0 | 2 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN KINDERN | überhaupt nicht | manchmal | sehr |
|--|-----------------|----------|------|
| 1. Ist es schwer für Dich mit anderen Kindern gut auszukommen? | 0 | 2 | 4 |
| 2. Sagen andere Kinder, dass sie nicht mit Dir spielen wollen? | 0 | 2 | 4 |
| 3. Wirst Du von anderen Kinder ausgelacht oder geärgert? | 0 | 2 | 4 |
| 4. Können andere Kinder Dinge tun, die Du nicht tun kannst? | 0 | 2 | 4 |
| 5. Ist es schwer für Dich, richtig mitzumachen, wenn Du mit anderen Kindern spielst? | 0 | 2 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE/IM KINDERGARTEN | überhaupt nicht | manchmal | sehr |
|---|-----------------|----------|------|
| 1. Ist es schwer für Dich in der Schule/im Kindergarten aufzupassen? | 0 | 2 | 4 |
| 2. Vergisst Du Dinge? | 0 | 2 | 4 |
| 3. Ist es schwer für Dich, mit dem, was ihr in der Schule/ im Kindergarten macht, rechtzeitig fertig zu werden? | 0 | 2 | 4 |
| 4. Fehlst Du in der Schule/im Kindergarten, weil es Dir nicht gut geht? | 0 | 2 | 4 |
| 5. Fehlst Du in der Schule/im Kindergarten, weil Du zum Arzt oder ins Krankenhaus musst? | 0 | 2 | 4 |

Wie schwer oder wie schlimm ist das für Dich?

Überhaupt nicht



Manchmal



Sehr



| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

ELTERNFRAGEBOGEN für KINDER (5-7 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite finden Sie eine Liste von Dingen, die möglicherweise für **Ihr Kind** ein Problem darstellen. Bitte sagen Sie uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN ein Problem** für **Ihr Kind** waren, indem Sie die zutreffende Zahl ankreuzen:

- 0 es war **nie** ein Problem
- 1 es war **fast nie** ein Problem
- 2 es war **manchmal** ein Problem
- 3 es war **häufig** ein Problem
- 4 es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Sie eine Frage nicht verstehen, bitten Sie um Hilfe.

Hatte Ihr Kind in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten**?

| PROBLEME IM KÖRPERLICHEN BEREICH MEIN KIND | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme mehr als 100 Meter zu Fuß zu gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme beim Rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Probleme an sportlichen Aktivitäten teilzunehmen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Probleme etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme selbstständig zu baden oder zu duschen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. ... hatte Probleme Aufgaben im Haushalt zu erledigen, z.B. seine Spielsachen aufzuräumen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. ... hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. ... war schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM EMOTIONALEN BEREICH MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... machte sich Sorgen, was mit ihm passieren wird. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN KINDERN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Schwierigkeiten mit anderen Kindern gut auszukommen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme, weil andere Kinder nicht mit ihm befreundet sein wollten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... wurde von anderen Kindern gehänselt. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... konnte nicht das tun, was andere Kinder in seinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme beim Spielen mit anderen Kindern mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE/IM KINDERGARTEN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme im Unterricht/im Kindergarten aufzupassen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... vergaß Dinge. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Probleme bei Aktivitäten im Kindergarten oder in der Schule mithalten zu können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... fehlte in der Schule/im Kindergarten, weil es ihm nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... fehlte in der Schule/im Kindergarten, weil es beim Arzt oder im Krankenhaus war. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| | |
|--------|--|
| ID-NR: | |
| Datum: | |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

FRAGEBOGEN für KINDER (8-12 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite findest Du eine Liste von Dingen, die möglicherweise für Dich ein Problem sein können. Bitte sage uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** ein Problem für Dich waren, indem Du die zutreffende Zahl ankreuzt:

- 0** es war **nie** ein Problem
- 1** es war **fast nie** ein Problem
- 2** es war **manchmal** ein Problem
- 3** es war **häufig** ein Problem
- 4** es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Du eine Frage nicht verstehst, bitte um Hilfe.

Hattest Du in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten**?

| PROBLEME MIT GESUNDHEIT UND AKTIVITÄTEN | nie | fast nie | manchmal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|----------|--------|------------|
| 1. Es fiel mir schwer, mehr als 100 Meter zu Fuß zu gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Es fiel mir schwer zu rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Es fiel mir schwer an sportlichen Aktivitäten teilzunehmen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Es fiel mir schwer etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Es fiel mir schwer alleine (ohne Hilfe) zu baden oder zu duschen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. Es fiel mir schwer Aufgaben im Haushalt zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. Ich hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. Ich fühlte mich schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME MIT STIMMUNG/GEFÜHLEN | nie | fast nie | manchmal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|----------|--------|------------|
| 1. Ich hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Ich war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Ich war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Ich machte mir Sorgen, was mit mir passieren wird. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN KINDERN | nie | fast nie | manchmal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|----------|--------|------------|
| 1. Ich hatte Schwierigkeiten mit anderen Kindern gut auszukommen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Andere Kinder wollten nicht mit mir befreundet sein. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Andere Kinder hänselten mich. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich konnte nicht das tun, was andere Kinder in meinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Es war schwer für mich mit anderen Kindern in meinem Alter beim Spielen mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE | nie | fast nie | manchmal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|----------|--------|------------|
| 1. Es fiel mir schwer im Unterricht aufzupassen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Ich vergaß Dinge. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Es fiel mir schwer, das, was ich in der Schule und für die Schule tun sollte, zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich fehlte in der Schule, weil es mir nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Ich fehlte in der Schule, weil ich zum Arzt oder ins Krankenhaus musste. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

ELTERNFRAGEBOGEN für KINDER (8-12 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite finden Sie eine Liste von Dingen, die möglicherweise für **Ihr Kind** ein Problem darstellen. Bitte sagen Sie uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN ein Problem** für **Ihr Kind** waren, indem Sie die zutreffende Zahl ankreuzen:

- 0 es war **nie** ein Problem
- 1 es war **fast nie** ein Problem
- 2 es war **manchmal** ein Problem
- 3 es war **häufig** ein Problem
- 4 es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Sie eine Frage nicht verstehen, bitten Sie um Hilfe.

Hatte Ihr Kind in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten**?

| PROBLEME IM KÖRPERLICHEN BEREICH MEIN KIND | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme mehr als 100 Meter zu Fuß zu gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme beim Rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Probleme an sportlichen Aktivitäten teilzunehmen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Probleme etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme selbstständig zu baden oder zu duschen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. ... hatte Probleme Aufgaben im Haushalt zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. ... hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. ... war schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM EMOTIONALEN BEREICH MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... machte sich Sorgen, was mit ihm passieren wird. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN KINDERN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Schwierigkeiten mit anderen Kindern gut auszukommen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme, weil andere Kinder nicht mit ihm befreundet sein wollten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... wurde von anderen Kindern gehänselt. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... konnte nicht das tun, was andere Kinder in seinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme beim Spielen mit anderen Kindern mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme im Unterricht aufzupassen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... vergaß Dinge. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Schwierigkeiten, das, was es in der Schule und für die Schule tun sollte, zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... fehlte in der Schule, weil es ihm nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... fehlte in der Schule, weil es beim Arzt oder im Krankenhaus war. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

FRAGEBOGEN für JUGENDLICHE (13-18 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite findest Du eine Liste von Dingen, die möglicherweise für Dich ein Problem sein können. Bitte sage uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN ein Problem** für Dich waren, indem Du die zutreffende Zahl ankreuzt:

- 0 es war **nie** ein Problem
- 1 es war **fast nie** ein Problem
- 2 es war **manchmal** ein Problem
- 3 es war **häufig** ein Problem
- 4 es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Du eine Frage nicht verstehst, bitte um Hilfe.

Hattest Du in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten?**

| PROBLEME MIT GESUNDHEIT UND AKTIVITÄTEN | nie | fast nie | manch-mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|-----------|--------|------------|
| 1. Es fiel mir schwer mehr, als 100 Meter zu Fuß zu gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Es fiel mir schwer zu rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Es fiel mir schwer an sportlichen Aktivitäten teilzunehmen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Es fiel mir schwer etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Es fiel mir schwer alleine (ohne Hilfe) zu baden oder zu duschen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. Es fiel mir schwer Aufgaben im Haushalt zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. Ich hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. Ich fühlte mich schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME MIT STIMMUNG/GEFÜHLEN | nie | fast nie | manch-mal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|-----------|--------|------------|
| 1. Ich hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Ich war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Ich war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Ich machte mir Sorgen, was mit mir passieren wird. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN JUGENDLICHEN | nie | fast nie | manch-mal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|-----------|--------|------------|
| 1. Ich hatte Schwierigkeiten mit anderen Jugendlichen gut auszukommen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Andere Jugendliche wollten nicht mit mir befreundet sein. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Andere Jugendliche hänselten mich. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich konnte nicht das tun, was andere Jugendliche in meinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Es war schwer für mich mit anderen Jugendlichen in meinem Alter mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE | nie | fast nie | manch-mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|-----------|--------|------------|
| 1. Es fiel mir schwer im Unterricht aufzupassen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. Ich vergaß Dinge. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. Es fiel mir schwer, das, was ich in der Schule und für die Schule tun sollte, zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. Ich fehlte in der Schule, weil es mir nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. Ich fehlte in der Schule, weil ich zum Arzt oder ins Krankenhaus musste. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| | |
|--------|-------|
| ID-NR: | _____ |
| Datum: | _____ |

PedsQL™

Pädiatrischer Fragebogen zur Lebensqualität

Version 4.0 - Deutsch

ELTERNFRAGEBOGEN für JUGENDLICHE (13-18 Jahre)

ANLEITUNG

Auf der folgenden Seite finden Sie eine Liste von Dingen, die möglicherweise für **Ihr Kind** ein Problem darstellen. Bitte sagen Sie uns, ob diese Dinge in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN ein Problem** für **Ihr Kind** waren, indem Sie die zutreffende Zahl ankreuzen:

- 0** es war **nie** ein Problem
- 1** es war **fast nie** ein Problem
- 2** es war **manchmal** ein Problem
- 3** es war **häufig** ein Problem
- 4** es war **fast immer** ein Problem

Es gibt keine "richtigen" oder "falschen" Antworten. Wenn Sie eine Frage nicht verstehen, bitten Sie um Hilfe.

Hatte Ihr Kind in den **VERGANGENEN 4 WOCHEN** folgende **Probleme oder Schwierigkeiten**?

| PROBLEME IM KÖRPERLICHEN BEREICH MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme mehr als 100 Meter zu Fuß zu gehen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme beim Rennen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Probleme an sportlichen Aktivitäten teilzunehmen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Probleme etwas Schweres aufzuheben. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme selbstständig zu baden oder zu duschen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. ... hatte Probleme Aufgaben im Haushalt zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. ... hatte Schmerzen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. ... war schlapp. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM EMOTIONALEN BEREICH MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Angst. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... war traurig. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... war sauer. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... hatte Schwierigkeiten zu schlafen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... machte sich Sorgen, was mit ihm passieren wird. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IM UMGANG MIT ANDEREN JUGENDLICHEN MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|---|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Schwierigkeiten mit anderen Jugendlichen gut auszukommen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... hatte Probleme, weil andere Jugendliche nicht mit ihm befreundet sein wollten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... wurde von anderen Jugendlichen gehänselt. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... konnte nicht das tun, was andere Jugendliche in seinem Alter tun können. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... hatte Probleme mit anderen Jugendlichen mitzuhalten. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

| PROBLEME IN DER SCHULE MEIN KIND ... | nie | fast nie | manch- mal | häufig | fast immer |
|--|-----|----------|---------------|--------|---------------|
| 1. ... hatte Probleme im Unterricht aufzupassen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ... vergaß Dinge. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ... hatte Schwierigkeiten, das, was es in der Schule und für die Schule tun sollte, zu erledigen. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ... fehlte in der Schule, weil es ihm nicht gut ging. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ... fehlte in der Schule, weil es beim Arzt oder im Krankenhaus war. | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

Literaturverzeichnis

- Abdel Fattah, M; Abdel Ghany, E; Adel, A; Mosallam, D; Kamal, S (2010): Glucose-6-phosphate dehydrogenase and red cell pyruvate kinase deficiency in neonatal jaundice cases in Egypt. In: *Pediatric hematology and oncology* 27 (4), S. 262–271. DOI: 10.3109/08880011003639986.
- Adam, S; Afifi, H; Thomas, M; Magdy, P; El-Kamah, G (2017): Quality of Life Outcomes in a Pediatric Thalassemia Population in Egypt. In: *Hemoglobin* 41 (1), S. 16–20. DOI: 10.1080/03630269.2017.1312434.
- Amiri, P; Eslamian, G; Mirmiran, P; Shiva, N; Jafarabadi, M; Azizi, F (2012): Validity and reliability of the Iranian version of the Pediatric Quality of Life Inventory™ 4.0 (PedsQL™) Generic Core Scales in children. In: *Health and quality of life outcomes* 10, S. 3. DOI: 10.1186/1477-7525-10-3.
- Andersen, FD; D'Amore, F; Nielsen, FC; van Solinge, W; Jensen, F; Jensen, PD. (2004): Unexpectedly high but still asymptomatic iron overload in a patient with pyruvate kinase deficiency. In: *The hematology journal: the official journal of the European Haematology Association* 5 (6), S. 543–545. DOI: 10.1038/sj.thj.6200556.
- Barbier, AJ; Bodie, S; Connor, G; Merica, E; Kung, C; Le, K (2016): Safety, Tolerability, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Multiple Doses of AG-519, an Allosteric Activator of Pyruvate Kinase-R, in Healthy Subjects. In: *Blood* 128 (22), S. 1264.
- Baronciani, L.; Beutler, E. (1993): Analysis of pyruvate kinase-deficiency mutations that produce nonspherocytic hemolytic anemia. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (9), S. 4324–4327.
- Beverung, LM; Varni, JW; Panepinto, JA. (2015): Clinically meaningful interpretation of pediatric health-related quality of life in sickle cell disease. In: *Journal of pediatric hematology/oncology* 37 (2), S. 128–133. DOI: 10.1097/MPH.0000000000000177.
- Bickenbach, KA; Gonen, M; Labow, DM; Strong, V; Heaney, ML; Zelenetz, AD; Coit, DG. (2013): Indications for and efficacy of splenectomy for haematological disorders. In: *The British journal of surgery* 100 (6), S. 794–800. DOI: 10.1002/bjs.9067.
- Bisharat, N; Omari, H; Lavi, I; Raz, R. (2001): Risk of infection and death among post-splenectomy patients. In: *The Journal of infection* 43 (3), S. 182–186. DOI: 10.1053/jinf.2001.0904.
- Boivin, P; Ottenwaelter, T. (1982): Anémie hémolytique héréditaire par déficit en pyruvate-kinase. Pronostic des formes néo-natales. In: *La Nouvelle presse médicale* 11 (12), S. 917–919.
- Canu, G; Bonis, M; Minucci, A; Capoluongo, E (2016): Red blood cell PK deficiency: An update of PK-LR gene mutation database. In: *Blood cells, molecules & diseases* 57, S. 100–109. DOI: 10.1016/j.bcmd.2015.12.009.
- Cario, H; Grosse, R; Janssen, G; Jarisch, A; Meerpohl, J; Strauss, G. (2015): Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der sekundären Eisenüberladung bei Patienten mit angeborenen Anämien (S2). In: *Leitlinien Kinder- und Jugendmedizin*: Elsevier, I7.1-I7.19.
- Chou, R; DeLoughery, TG. (2001): Recurrent thromboembolic disease following splenectomy for pyruvate kinase deficiency. In: *American journal of hematology* 67 (3), S. 197–199. DOI: 10.1002/ajh.1107.
- Climent, F; Roset, F; Repiso, A; La Pérez de Ossa, P (2009): Red cell glycolytic enzyme disorders caused by mutations: an update. In: *Cardiovascular & hematological disorders drug targets* 9 (2), S. 95–106.
- Crary, SE; Buchanan, GR. (2009): Vascular complications after splenectomy for hematologic disorders. In: *Blood* 114 (14), S. 2861–2868. DOI: 10.1182/blood-2009-04-210112.

Diamantidis, MD; Neokleous, N; Agapidou, A; Vetsiou, E; Manafas, A; Fotiou, P; Vlachaki, E (2016): Iron chelation therapy of transfusion-dependent β -thalassemia during pregnancy in the era of novel drugs. Is deferasirox toxic? In: *International journal of hematology* 103 (5), S. 537–544. DOI: 10.1007/s12185-016-1945-Y.

Diez, A; Gilsanz, F; Martinez, J; Pérez-Benavente, S; Meza, NW; Bautista, JM (2005): Life-threatening nonspherocytic hemolytic anemia in a patient with a null mutation in the PKLR gene and no compensatory PKM gene expression. In: *Blood* 106 (5), S. 1851–1856. DOI: 10.1182/blood-2005-02-0555.

Dixit, R; Nettem, S; Madan, SS; Soe, HHK; Abas, AB; Vance, LD; Stover, PJ(2016): Folate supplementation in people with sickle cell disease. In: *The Cochrane database of systematic reviews* 2, CD011130. DOI: 10.1002/14651858.CD011130.pub2.

Dolan, LM; Ryan, M; Moohan, J (2002): Pyruvate kinase deficiency in pregnancy complicated by iron overload. In: *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology* 109 (7), S. 844–846.

Fanning, J; Hinkle, RS (1985): Pyruvate kinase deficiency hemolytic anemia. Two successful pregnancy outcomes. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 153 (3), S. 313–314.

Ferreira, P; Morais, L.; Costa, R.; Resende, C.; Dias, CP.; Araújo, F; Costa E; Barbot J; Vilarinho A. (2000): Hydrops fetalis associated with erythrocyte pyruvate kinase deficiency. In: *European journal of pediatrics* 159 (7), S. 481–482.

Garcia-Gomez, M; Calabria, A; Garcia-Bravo, M; Benedicenti, F; Kosinski, P; López-Manzaneda, S; Hill, Colin; Manu-Pereira, MM; A Martin, M; Orman, Israel; Vives-Corróns, JLL; Kung, Charles; Shambach, Alex; Jin, S; ABueren, H; Montini, E; Navvaro, S; CSegovia, J (2016): Safe and Efficient Gene Therapy for Pyruvate Kinase Deficiency. In: *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 24 (7), S. 1187–1198. DOI: 10.1038/mt.2016.87.

Ghidini, A; Korker, VL. (1998): Severe pyruvate kinase deficiency anemia. A case report. In: *The Journal of reproductive medicine* 43 (8), S. 713–715.

Grace, RF; Bianchi, P; van Beers, EJ.; Eber, SW.; Glader, B; Yaish, HM; Despotovic, JM; Rothman, JA; Sharma, M; McNaull, MM; Fermo, E; Lezon-Geyda, K; D. Morton, DH; Neufeld, EJ; Chonat, S; Kollmar, N; Knoll, CM; Kuo, K; Kwiatkowski, JL; Pospíšilová, D; Pastore, YD; Thompson, AL; Newburger, PE; Ravindranath, Y; Wang, WC; Wlodarski, MW; Wang, H; Holzhauer, S; Breakey, VR; Kunz, J; Sheth, S; Rose, MJ; Bradeen, HA; Neu, N; Guo, D; Al-Sayegh, H; London, WB; Gallagher, PJ; Zanella, A; Barcellini, W (2018a): Clinical spectrum of pyruvate kinase deficiency. Data from the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. In: *Blood* 131 (20), S. 2183–2192. DOI: 10.1182/blood-2017-10-810796.

Grace, RF.; Cohen, J; Egan, S; Wells, T; Witherspoon, B; Ryan, A; Salek, SS; Bodie, S; Klaassen RJ (2018b): The burden of disease in pyruvate kinase deficiency. Patients' perception of the impact on health-related quality of life. In: *European journal of haematology* 101 (6), S. 758–765. DOI: 10.1111/ejh.13128.

Grace, RF; Mark Layton, D; Barcellini, W (2019): How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. In: *British journal of haematology* 184 (5), S. 721–734. DOI: 10.1111/bjh.15758.

Grace, RF; Rose, C; Layton, DM; Morton, DH; Yaish, HM; van Beers, E; Kuo, K; Barcellini, W; Galactéros, F; Ravindranath, Y; Kwiatkowski, JL; Silver, B; Kung, C; Cohen, M; Yang, H; Hixon, J; Chubukov, V; Kosinski, PA; Silverman, L; Dang, L; Xu, H; Barbier, AJ; Glader, B. (2016): Effects of AG-348, a Pyruvate Kinase Activator, on Anemia and Hemolysis in Patients with Pyruvate Kinase Deficiency. Data from the DRIVE PK Study. In: *Blood* 128 (22), S. 402.

Grace, RF.; Zanella, A; Neufeld, EJ; Morton, DH; Eber, S; Yaish, H; Glader, B (2015): Erythrocyte pyruvate kinase deficiency. 2015 status report. In: *American journal of hematology* 90 (9), S. 825–830. DOI: 10.1002/ajh.24088.

Iolascon, A; Andolfo, I; Barcellini, W; Corcione, F; Garçon, L; Franceschi, L; Pignata, C; Graziadei, G; Pospisilova, D; Rees, D; de Montalembert, M; Rivella, S; Gambale, A; Russo, R; Ribeiro, L; Vives-Corróns, J;

- Martinez, P; Kattamis, A; Gulbis, B; Cappellini, MD; Roberts, I; Tamary, H; (2017): Recommendations regarding splenectomy in hereditary hemolytic anemias. In: *Haematologica* 102 (8), S. 1304–1313. DOI: 10.3324/haematol.2016.161166.
- Ismail, A; Campbell, MJ; Ibrahim, HM; Jones, GL. (2006): Health Related Quality of Life in Malaysian children with thalassaemia. In: *Health and quality of life outcomes* 4, S. 39. DOI: 10.1186/1477-7525-4-39.
- Jaouani, M.; Manco, L.; Kalai, M.; Chaouch, L.; Douzi, K.; Silva, A; Macedo, S; Darragi, I; Boudriga, I; Chaouachi, D; Fitouri, Z; Van Wijk, R; Ribeiro, ML; Abbes, S (2017): Molecular basis of pyruvate kinase deficiency among Tunisians: description of new mutations affecting coding and noncoding regions in the PKLR gene. In: *International journal of laboratory hematology* 39 (2), S. 223–231. DOI: 10.1111/ijlh.12610.
- Kanno, H.; Wei, D. C.; Chan, L. C.; Mizoguchi, H.; Ando, M.; Nakahata, T; Narisawa, K; Fujii, H; Miwa, S. (1994): Hereditary hemolytic anemia caused by diverse point mutations of pyruvate kinase gene found in Japan and Hong Kong. In: *Blood* 84 (10), S. 3505–3509.
- Koralkova, P.; van Solinge, W. W.; van Wijk, R. (2014): Rare hereditary red blood cell enzymopathies associated with hemolytic anemia - pathophysiology, clinical aspects, and laboratory diagnosis. In: *International journal of laboratory hematology* 36 (3), S. 388–397. DOI: 10.1111/ijlh.12223.
- Kugler, W.; Willaschek, C.; Holtz, C.; Ohlenbusch, A.; Laspe, P.; Krügener, R; Muirhead, H; Schröter, W; Lakomek, M. (2000): Eight novel mutations and consequences on mRNA and protein level in pyruvate kinase-deficient patients with nonspherocytic hemolytic anemia. In: *Human mutation* 15 (3), S. 261–272. DOI: 10.1002/(SICI)1098-1004(200003)15:3<261::AID-HUMU7>3.0.CO;2-T.
- Lakomek, M.; Neubauer, B.; Lühe, A. von der; Hoch, G.; Winkler, H.; Schröter, W. (1992): Erythrocyte pyruvate kinase deficiency: relations of residual enzyme activity, altered regulation of defective enzymes and concentrations of high-energy phosphates with the severity of clinical manifestation. In: *European journal of haematology* 49 (2), S. 82–92.
- Le, K; Cohen, M; Barbier, AJ; Merica, E; Kung, C; Kosinski, PA; Biller, S; Yang, H. (2016): Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of AG-519, a Pyruvate Kinase Activator for the Treatment of Pyruvate Kinase Deficiency, in Human Healthy Volunteers. In: *Blood* 128 (22), S. 1263.
- Lenzner, C; Nürnberg, P; Jacobasch, G; Gerth, C; Thiele, BJ. (1997): Molecular analysis of 29 pyruvate kinase-deficient patients from central Europe with hereditary hemolytic anemia. In: *Blood* 89 (5), S. 1793–1799.
- Luoto, TT; Pakarinen, MP; Koivusalo, A. (2016): Long-term outcomes after pediatric splenectomy. In: *Surgery* 159 (6), S. 1583–1590. DOI: 10.1016/j.surg.2015.12.014.
- Manco, L; Ribeiro, M. L; Almeida, H; Freitas, O; Abade, A; Tamagnini, G. (1999): PK-LR gene mutations in pyruvate kinase deficient Portuguese patients. In: *British journal of haematology* 105 (3), S. 591–595.
- Menezes, AS; Len, C; Hilário, MOE; Terreri, MTRA; Braga, JAP. (2013): Quality of life in patients with sickle cell disease. In: *Revista paulista de pediatria : orgao oficial da Sociedade de Pediatria de Sao Paulo* 31 (1), S. 24–29.
- Mojtahedzadeh, F; Kosaryan, M; Mahdavi, MR; Akbari, J. (2006): The effect of folic acid supplementation in beta-thalassemia major: a randomized placebo-controlled clinical trial. In: *Archives of Iranian medicine* 9 (3), S. 266–268.
- Mojzikova, R; Koralkova, P; Holub, D; Zidova, Z; Pospisilova, D; Cermak, J; Striezencova Lalahova, Z; Indrak, K; Sukova, M; Partschova, M; Kucerova, J; Horvathova, M; Divoky, V. (2014): Iron status in patients with pyruvate kinase deficiency: neonatal hyperferritinaemia associated with a novel frameshift deletion in the PKLR gene (p.Arg518fs), and low hepcidin to ferritin ratios. In: *British journal of haematology* 165 (4), S. 556–563. DOI: 10.1111/bjh.12779.
- Perseu, L; Giagu, N; Satta, S; Sollaino, MC; Congiu, R; Galanello, R. (2010): Red cell pyruvate kinase deficiency in Southern Sardinia. In: *Blood cells, molecules & diseases* 45 (4), S. 280–283. DOI: 10.1016/j.bcmd.2010.08.006.

- Reinfjell, T; Diseth, TH; Veenstra, M; Vikan, A. (2006): Measuring health-related quality of life in young adolescents: reliability and validity in the Norwegian version of the Pediatric Quality of Life Inventory 4.0 (PedsQL) generic core scales. In: *Health and quality of life outcomes* 4, S. 61. DOI: 10.1186/1477-7525-4-61.
- Rider, NL; Strauss, KA; Brown, K; Finkenstedt, A; Puffenberger, EG; Hendrickson, CL; Robinson, DL; Muenke, N; Tselepis, C; Saunders, L; Zoller, H; Morton, DH. (2011): Erythrocyte pyruvate kinase deficiency in an old-order Amish cohort: longitudinal risk and disease management. In: *American journal of hematology* 86 (10), S. 827–834. DOI: 10.1002/ajh.22118.
- Rijkssen, G.; Staal, G. E. (1977): Kinetics of human erythrocyte hexokinase. Influence of temperature, ATP4- and Mg2+. In: *Acta biologica et medica Germanica* 36 (3-4), S. 477–480.
- Samannodi, M; Zhao, A; Nemshah, Y; Shiley, K. (2016): Plesiomonas shigelloides Septic Shock Leading to Death of Postsplenectomy Patient with Pyruvate Kinase Deficiency and Hemochromatosis. In: *Case reports in infectious diseases* 2016, S. 1538501. DOI: 10.1155/2016/1538501.
- Sandoval, C; Stringel, G; Weisberger, J; Jayabose, S. (1997): Failure of partial splenectomy to ameliorate the anemia of pyruvate kinase deficiency. In: *Journal of pediatric surgery* 32 (4), S. 641–642.
- Sharma, S; Seth, B; Jawade, P; Ingale, M; Setia, MS. (2017): Quality of Life in Children with Thalassemia and their Caregivers in India. In: *Indian journal of pediatrics* 84 (3), S. 188–194. DOI: 10.1007/s12098-016-2267-z.
- Stamou, KM; Toutouzas, KG; Kekis, PB; Nakos, S; Gafou, A; Manouras, A; Krespis, E; Katsaragakis, S; Bramis, J (2006): Prospective study of the incidence and risk factors of postsplenectomy thrombosis of the portal, mesenteric, and splenic veins. In: *Archives of surgery (Chicago, Ill.: 1960)* 141 (7), S. 663–669. DOI: 10.1001/archsurg.141.7.663.
- Taher, A; Isma'eel, H; Mehio, G; Bignamini, D; Kattamis, A; Rachmilewitz, EA; Cappellini, MD. (2006): Prevalence of thromboembolic events among 8,860 patients with thalassaemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. In: *Thrombosis and haemostasis* 96 (4), S. 488–491.
- Tanphaichitr, V. S; Suvatte, V; Issaragrisil, S; Mahasandana, C; Veerakul, G; Chongkolwatana, V; Waiyawuth, W; Ideguchi, H. (2000): Successful bone marrow transplantation in a child with red blood cell pyruvate kinase deficiency. In: *Bone marrow transplantation* 26 (6), S. 689–690. DOI: 10.1038/sj.bmt.1702576.
- Theodoridou, S; Zepiridis, L; Agapidou, A; Theodoridi, T; Vyzantiadis, TA. (2015): Pyruvate Kinase Deficiency along with Detection of Plasminogen Activator Inhibitor (PAI-1) 4G/4G Homozygous Genotype in Pregnancy. In: *GYNE*, S. 1–5. DOI: 10.5171/2015.744272.
- Titapiwatanakun, R; Hoyer, JD; Crain, K; Arndt, CAS. (2008): Relative red blood cell enzyme levels as a clue to the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. In: *Pediatric blood & cancer* 51 (6), S. 819–821. DOI: 10.1002/psc.21720.
- Valentini, G; Chiarelli, LR; Fortin, R; Dolzan, M; Galizzi, A; Abraham, DJ; Wang, C; Bianchi, P; Zanella, A; Mattevi, A. (2002): Structure and function of human erythrocyte pyruvate kinase. Molecular basis of nonspherocytic hemolytic anemia. In: *The Journal of biological chemistry* 277 (26), S. 23807–23814. DOI: 10.1074/jbc.M202107200.
- Van Beers, EJ; van Straaten, S; Morton, D. H; Barcellini, W; Eber, SW; Glader, B; Yaish, HM; Chonat, S; Kwiatkowski, JL; Rothman, JA; Sharma, M; Neufeld' EJ; Sheth' S; Despotovic' JM, Kollmar, N; Pospíšilová, D; Knoll, CM; Kuo, K; Pastore, YD; Thompson, AA; Newburger, PE; Ravindranath, Y; Wang, WC; Wlodarski, MW; Wang, H; Holzhauer, S; Breakey, VR; Verhovsek, M; Kunz, J; McNaull, MA; Rose, MJ; Bradeen, HA; Addonizio, K; Li, A; Al-Sayegh, A; London, WB; Grace, RF. (2018): Prevalence and management of iron overload in pyruvate kinase deficiency. Report from the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. In: *Haematologica*. DOI: 10.3324/haematol.2018.196295.
- van Straaten, S; Bierings, M; Bianchi, P; Akiyoshi, K; Kanno, H; Serra, I; Chen, J; Huang, X; van Beers, E; Ekwattanakit, S; Güngör, T; Kors, WA; Smiers, F; Raymakers, R; Yanez, L; Sevilla, J; van Solinge, W; Segovia,

JC; van Wijk, R. (2018): Worldwide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency. In: *Haematologica* 103 (2), e82-e86. DOI: 10.3324/haematol.2017.177857.

Varni, J. W.; Seid, M.; Kurtin, P. S. (2001): PedsQL 4.0: reliability and validity of the Pediatric Quality of Life Inventory version 4.0 generic core scales in healthy and patient populations. In: *Medical care* 39 (8), S. 800–812.

Wax, JR; Pinette, MG; Cartin, A; Blackstone, J. (2007): Pyruvate kinase deficiency complicating pregnancy. In: *Obstetrics and gynecology* 109 (2Pt2), S. 553–555. DOI: 10.1097/01.AOG.0000250475.70320.10.

Zanella, A.; Bianchi, P. (2000): Red cell pyruvate kinase deficiency: from genetics to clinical manifestations. In: *Bailliere's best practice & research. Clinical haematology* 13 (1), S. 57–81.

Zanella, A.; Bianchi, P.; Baronciani, L.; Zappa, M.; Bredi, E.; Vercellati, C; Alfinito, F; Pelissero, G; Sirchia, G. (1997): Molecular characterization of PK-LR gene in pyruvate kinase-deficient Italian patients. In: *Blood* 89 (10), S. 3847–3852.

Zanella, A.; Bianchi, P.; Iurlo, A.; Boschetti, C.; Taioli, E.; Vercellati, C ; Alfinito, F; Pelissero, G; Sirchia, G. (2001): Iron status and HFE genotype in erythrocyte pyruvate kinase deficiency: study of Italian cases. In: *Blood cells, molecules & diseases* 27 (3), S. 653–661. DOI: 10.1006/bcmd.2001.0433.

Zanella, A; Fermo, E; Bianchi, P; Chiarelli, LR; Valentini, G (2007): Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype association. In: *Blood reviews* 21 (4), S. 217–231. DOI: 10.1016/j.blre.2007.01.001.

Zanella, A; Fermo, E; Bianchi, P; Valentini, G. (2005): Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. In: *British journal of haematology*

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----------|
| Abbildung 1: Genlocus des PKLR Gens auf dem Chromosom 1..... | Seite 7 |
| Abbildung 2: Anaerobe Glykolyse der Erythrozyten-Emden-Meyerhof Weg..... | Seite 9 |
| Abbildung 3: Geschlechtsverteilung der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland..... | Seite 22 |
| Abbildung 4: Altersverteilung der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland..... | Seite 22 |
| Abbildung 5: Diagnosezeitpunkt der Patienten mit PK-Mangel in Deutschland..... | Seite 23 |
| Abbildung 6: Gesundheitsskala (0-100) der volljährigen Patienten mit PK-Mangel in Deutschland bei Einschluss..... | Seite 24 |
| Abbildung 7: VAS der volljährigen Patienten mit PK-Mangel in der prospektiven Beobachtungszeit von 2 Jahren..... | Seite 25 |
| Abbildung 8: Grafische Darstellung der HRQoL Scores 16 Kinder mit PK-Mangel (Scores nach Bewertung der Eltern) | Seite 28 |
| Abbildung 9: Grafische Darstellung der HRQoL Scores von Kindern ≥ 5 Jahre mit PK-Mangel..... | Seite 28 |
| Abbildung 10: Grafische Darstellung der HRQoL Scores von Kindern < 5 Jahre mit PK-Mangel..... | Seite 28 |
| Abbildung 11: Ikterus neonatorum bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 29 |
| Abbildung 12: Therapie des Ikterus neonatorum bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 30 |
| Abbildung 13: Streubreite des indirekten Bilirubinwertes der Patienten mit PK-Mangel in den letzten 5 Jahren..... | Seite 31 |
| Abbildung 14: Verlauf des indirekten Bilirubinwertes (Mittelwert aller Patienten) in der zweijährigen Beobachtungszeit..... | Seite 31 |
| Abbildung 15: Streubreite der LDH der Patienten mit PK-Mangel in den letzten 5 Jahren..... | Seite 32 |
| Abbildung 16: Verlauf des LDH-Wertes (Mittelwert aller Patienten) in der zweijährigen Beobachtungszeit..... | Seite 32 |
| Abbildung 17: Mittlerer Hämoglobinwert der letzten 5 Jahre..... | Seite 33 |
| Abbildung 18: Transfusionspflichtigkeit der Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 33 |
| Abbildung 19: Transfusion in der Neugeborenenzeit bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 34 |
| Abbildung 20: Transfusionshäufigkeit bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 34 |
| Abbildung 21: Triggerfaktoren einer Hämolyse bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 35 |
| Abbildung 22: Ferritin bei Patienten mit PK Mangel..... | Seite 35 |

| | |
|---|----------|
| Abbildung 23: Chelat-Therapie bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 39 |
| Abbildung 24: Splenektomie bei Patienten mit PK-Mangel | Seite 40 |
| Abbildung 25: Alter bei Splenektomie der Patienten mit PK-Mangel | Seite 40 |
| Abbildung 26: Indikationen für eine Splenektomie bei PK-Mangel | Seite 41 |
| Abbildung 27: Therapeutisches Outcome der Splenektomie bei PK-Mangel..... | Seite 42 |
| Abbildung 28: Gallensteine bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 42 |
| Abbildung 29: Cholezystektomie bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 43 |
| Abbildung 30: Prozentuale Restenzymaktivität im Vergleich zum Normwert der Pyruvatkinase der Erythrozyten (PK-R)..... | Seite 44 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|--------------|
| Tabelle 1: Einteilung des Schweregrades des PK-Mangels nach Zanella et al aktualisiert von Grace et al. 2015..... | Seite 14 |
| Tabelle 2: Gesundheitszustand der volljährigen Patienten mit PK-Mangel im Vergleich zum Alter und zu Komorbiditäten..... | Seite 24 |
| Tabelle 3: HRQL Scores von 16 pädiatrischen Patienten mit PK-Mangel (PedsQL– Parent Proxy Version 4.0)..... | Seite 26 |
| Tabelle 4: HRQL Scores der minderjährigen Patienten älter als 5 Jahre mit PK-Mangel (PedsQL-Child Self-Report Version 4.0)..... | Seite 27 |
| Tabelle 5: HRQL Scores der minderjährigen Patienten älter als 5 Jahre mit PK-Mangel (PedsQL-Parent Proxy Version 4.0)..... | Seite 27 |
| Tabelle 6: HRQL Scores der minderjährigen Patienten jünger als 5 Jahre mit PK-Mangel (PedsQL – Parent Proxy Version 4.0)..... | Seite 27 |
| Tabelle 7: Durchschnittlicher Ferritinwert in den letzten 12 Monaten vor Einschluss im Vergleich zur Transfusionspflichtigkeit..... | Seite 36 |
| Tabelle 8: Ferritinwert bei Patienten mit PK-Mangel im Vergleich zur Lebereisenmessung..... | Seite 37 |
| Tabelle 9: Chelat-Therapie im Vergleich zum Ferritinwert, Hämoglobinwert und molekulargenetische Befunde bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 38 |
| Tabelle 10: Medikation der Patienten mit PK-Mangel zum Zeitpunkt des Einschlusses (außer Chelat-Therapie)..... | Seite 39 |
| Tabelle 11: Prozentuelle Restenzymaktivität der PK-R bei Patienten mit PK-Mangel und schwere Anämie (<8 g/dl)..... | Seite 45 |
| Tabelle 12: Schweregrad der Anämie bei Patienten mit PK-Mangel und einer niedrigen Restenzymaktivität der PK-R..... | Seite 45 |
| Tabelle 13: Molekulargenetische Veränderungen im PKLR Gen im Vergleich zur Restenzymaktivität..... | Seiten 46-47 |
| Tabelle 14: Häufigste Mutationen im PKLR Gen bei Patienten mit PK-Mangel..... | Seite 48 |
| Tabelle 15: Patienten mit PK-Mangel und einen schweren Phänotyp..... | Seiten 50-51 |
| Tabelle 16: Patienten mit PK-Mangel und einen moderaten Phänotyp..... | Seite 51 |
| Tabelle 17: Patienten mit PK-Mangel und einen milden Phänotyp..... | Seite 52 |
| Tabelle 18: Klinische Charakteristika der Patienten mit PK-Mangel und Missense/ Missense Genotyp..... | Seite 53-54 |

Danksagung

Diese Doktorarbeit entstand im Zeitraum von Oktober 2016 bis Oktober 2019 in der Klinik für pädiatrische Hämatologie- und Onkologie im Klinikum Kassel in Kooperation mit der Kinderklinik der TUM und dem Boston Childrens` Hospital im Rahmen der PKD Natural History Study.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei Frau Prof. Michaela Nathrath, Direktorin der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie im Klinikum Kassel, weil sie diese Doktorarbeit betreut hat. Durch ihre hochkompetente und einfühlsame Begleitung ist dieses Werk entstanden. Sie war immer da, in schlechten und in guten Zeiten und hat diese Doktorarbeit nicht nur fachlich begleitet, sondern mich als Doktorandin jederzeit ermutigt und motiviert. Ich hätte mir keine bessere Betreuerin für diese Doktorarbeit wünschen können.

Besonders danke ich Frau Dr.Nina Kollmar. Durch ihr Engagement ist die Idee für diese Doktorarbeit entstanden. Sie hat als Leiterin der PKD Natural History Study im Klinikum Kassel erheblich zu der Verfassung dieser Doktorarbeit beigetragen. Danke für das Korrekturlesen und die anregenden Diskussionen insbesondere in der ersten Phase der Verfassung dieser Dissertation.

Herrn Prof. Stefan Burdach möchte ich dafür danken, dass er ermöglicht hat, diese Doktorarbeit als externe Promotion in Kooperation mit der TUM zu veröffentlichen. Zudem bedanke ich mich für seine Anregung die Ergebnisse dieser Arbeit in der Monatschrift Kinderheilkunde zu publizieren.

Frau Prof. Rachael Grace, Leiterin der PKD Natural History Study aus dem Boston Childrens` Hospital, möchte ich für ihre Unterstützung bei der Verfassung dieser Arbeit und die Korrektur der englischen Versionen der Publikationen im Kongress der European Hematology Association besonders danken. Es war mir eine Ehre mit ihr im Rahmen dieser Studie zu arbeiten und sie persönlich kennenzulernen.

Herrn Prof. Stefan Eber danke ich für die Erlaubnis seine Patientendaten für diese Arbeit zu nutzen und für die zweimalige Besuche in seiner Praxis zwecks Datensammlung. Zudem bedanke ich mich bei Herrn Dr. Kunz und Herrn Dr.Wlodarski für ihre Patientendaten.

Meine Kollegin und liebe Oberärztin Frau Dr.med. Martina Rodehüser danke ich sehr dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatte und stets Mühe gegeben hat, mir den Besuch von fachlichen Veranstaltungen trotz eines anspruchvollen Alltags in der Klinik zu ermöglichen. Danke auch dafür, dass sie meine Sorgen immer gehört hat und mich motiviert hat.

Meinen Mann Spyros danke ich dafür, dass er mich bei computertechnischen Fragestellungen unterstützt hat. Er hat geduldig meine Sorgen täglich angehört, hat mir zeitlichen Freiraum geschaffen und hat das Abenteuer Doktorarbeit vom ganzen Herzen unterstützt. Zusammen mit unseren beiden Töchtern Sophia und Elisa haben wir das Projekt Doktorarbeit zu Ende gebracht. Ich kann mir keine bessere Familie auf der Welt vorstellen.