



Federica R. Achini-Gutzwiller¹, Martina Temperli², Severine Gilloz³, Markus Schmutz⁴

Diagnostik und Behandlung von erythrozytären Enzymdefekten bei Kindern und Erwachsenen

Verschiedene angeborene Enzymdefekte sind als Ursache meist schubweise und seltener chronisch verlaufender hämolytischer Anämien bekannt (Tabelle 1). Die zugrundeliegenden genetischen Veränderungen führen zu einer abnormalen Aktivität, Stabilität und Substrataffinität der betroffenen Enzyme, welche eine essentielle Rolle in der Glykolyse oder im Pentosephosphatstoffwechsel der Erythrozyten (Ec) spielen (1, 2). Dies kann den Energiestoffwechsel der Ec stark beeinträchtigen, insbesondere weil reife Ec ausschliesslich auf die anaerobe Glykolyse und auf den alternativen Pentosephosphatstoffwechsel (syn. Hexosemonophosphatweg) zur Energiegewinnung angewiesen sind.

Nur wenige seltene Enzymdefekte führen zu zusätzlichen klinischen Manifestationen in anderen Organsystemen (i.e. Triosephosphatisomerasemangel) (1). Eine Diagnosestellung ist meist bereits durch die Messung der entsprechenden Enzymaktivität möglich. Molekulargenetische Methoden werden wegen der grossen Anzahl bekannter Mutationen und einer oft schlechten Genotyp-Phänotyp-Korrelation nur selten angewandt. Ausnahmen sind hier die Diagnose eines Pyruvatkinase- oder eines Triphosphatisomerasemangels sowie pränatale molekulargenetische Untersuchungen bei bekannten familiären Mutationen, die mit einer schwer verlaufenden Enzymopathie einhergehen (3,4,8).

Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-(G6PD)- Mangel (Favismus)

Fall 1. G6PD-Mangel ohne Restaktivität

Ein 6-jähriger Junge nicht konsanguiner Eltern wurde zur weiteren hämatologischen Abklärung aufgrund von rezidivierendem Sklerenikterus sowie verlangsamter Wachstumsgeschwindigkeit, milder makrozytärer hyperregeneratorischer Anämie (Hb 107 g/L, MCV 93.7fl, R_c 136.4G/L) und milder indirekter Hyperbilirubinämie (totales Bilirubin 59 umol/L) bei intakter Leberfunktion zugewiesen. Banale Infektsymptome verstärkten die Ausprägung des Sklerenikterus. Die Ernäh-

rung des Kindes war ausgewogen, ein Folsäure- und Vitamin-B12-Mangel sowie eine Zöliakie als mögliche Ursache einer intestinalen Resorptionsstörung wurden ausgeschlossen. Die weitere Labordiagnostik ergab keine Hinweise, weder auf eine Hämoglobinopathie noch auf einen Erythrozytenmembrandefekt als Ursache der chronischen Hämolyse. Zudem war die Erythrozytenmorphologie unauffällig. Mittels quantitativer photometrischer Messung konnte schliesslich ein schwerer hemizygoter G6PD-Mangel mit fehlender G6PD-Aktivität in den Erythrozyten bestätigt werden. Bei mildem Krankheitsverlauf war eine Erythrozytentransfusion bisher nicht notwendig. Eine Beratung der Familie zur Beach-

tung einer Liste kontraindizierter Medikamente wurde durchgeführt.

Genetik, Klinik

Dieser X-chromosomal vererbte Enzymdefekt ist eine der häufigsten genetisch bedingten Erkrankungen weltweit. Genträger stammen v.a. aus aktuell und historisch von Malaria betroffenen Regionen und sind mit sehr grosser Wahrscheinlichkeit besser gegen diese weltweit sehr häufige Infektionskrankheit geschützt. Beim G6PD-Mangel sind betroffene Männer hemizygot und symptomatisch bei nicht vorhandener Enzymaktivität. Klinische Symptome, welche meist schubweise unter oxidativem Stress, z.B. nach Einnahme kontaindizierter Medikamente

	Wirkstoff	(Präparat) Indikation
Antibiotika	Ciprofloxacin, Co-Trimoxazol, Levofloxacin, Norfloxacin, Gentamicin	(Ciproxin, Ciprofloxacin, Bactrim, Nopil, Tavanic)
Analgetika*	Metamizol, hochdosierte AS,	(Novalgin, Aspirin)
Antimalaria	Chloroquin, Hydroxichloroquin	(Nivaquin, Plaquenil)
Antidiabetika	Glibenclamid, Gliclazid, Gilbournurid, Glimepirid	(Daonil, Glibenorm, Glutril, Diamicon, Gliclazid)
Sulfonamide	Sulfadiazin, Acetazolamid	(Flammazine, Ialugen Plus) Topische Therapie zur Förderung der Wundheilung; (Diamox) erhöhter Hirndruck
Verschiedene Substanzen	Rasburicase (Uratoxidase)	(Fasturtec) Adjuvance zur Urat-Reduktion bei onkologischen Patienten
	Prilocain	Lokalanästhetikum
	Methylenblau, Toluidinblau	Antidot, Therapie bei erhöhtem Met-Hb
	Sultiam	(Ospolot) Antiepileptikum

1 Dr. med. Federica R. Achini-Gutzwiller, Universitäts-Kinderspital Zürich, Forschungszentrum für das Kind
 2 Martina Temperli, BMA HFP, Fachbereichsleitung
 3 Severine Gilloz, BMA HF, Stv. Fachbereichsleitung
 4 Prof. Dr. med. Markus Schmutz, FMH Pädiatrie, FAMH Hämatologie, Leitender Arzt Universitäts-Kinderspital Zürich

Tabelle 1: Zu meidende Medikamente bei hemi- und homozygotem G6PD-Mangel. Auswahl aus der Liste der Hämatologie und des Pharmazeutischen Dienstes des Universitäts-Kinderspitals Zürich (2017/2018). Verfasser übernehmen keine Garantie auf Vollständigkeit der Liste. *Acetylsalicylsäure, Paracetamol und nicht steroidale Antirheumatika können in den üblichen Dosierungen (Kompendium) verabreicht werden. Hohe und überhöhte Dosierungen, insbesondere bei Acetylsäure (>10 mg/kg) und bei Paracetamol (>20 mg/kg) sollten vermieden werden.

(Tabelle 1) entstehen und sich seltener als chronisch hämolytische Anämie manifestieren, treten bei hemizygoten Männern und homozygoten Frauen mit ähnlicher Ausprägung auf. Heterozygote Frauen sind hingegen wegen vorhandener Enzymrestaktivität meist asymptomatisch. Eine X-Chromosomeninaktivierung (Lyon Hypothese, X-Inaktivierung) kann sich in Einzelfällen mit Hämolyseepisoden wie bei homozygoten Patientinnen und hemizygoten Patienten manifestieren (3).

Das Gen für die G6PD ist auf dem langen Arm des X-Chromosoms lokalisiert. Fast alle der >180 bekannten Mutationen sind durch eine Missense-Punktmutation und Ersatz einer einzigen Aminosäure charakterisiert. Die G6PD katalysiert den ersten Schritt des Pentosephosphatzyklus, der v.a. der Bildung von NADPH- und im Weiteren von reduzierendem Glutathion dient. Bei Einwirkung oxidativer Noxen kann bei Betroffenen die NADPH-Synthese nicht gesteigert werden, und es kommt zur Oxidation wichtiger erythrozytärer Proteine, zur Schädigung der Zellmembran und schlussendlich zur Hämolyse. Die wichtigsten Auslöser einer Situation mit «oxidativem Stress» sind Medikamente, chemische Substanzen, Azidose und Infekte. Die Einnahmen der gelbgrünen Favabohnen (Bild 1) führt typischerweise zum Hämolyseepisoden und hat der Krankheit den Namen verliehen. Neugeborene leiden typischerweise an einem Icterus gravis, meist ohne gravierende Anämie. Nach Hämolyseepisoden und bei chronisch-hämolytischen Formen sind Heinz-Innenkörper in Supravital-Färbungen nachweisbar (Bild 2A). Hauptauslöser der Hämolyse

sind gewisse Medikamentengruppen (Antibiotika, Antimalaria-Medikamente, Sulfonamide, orale Antidiabetika; siehe (Tabelle 1) und sollten gemieden werden. Heterozygote Frauen mit reduzierter, aber ausreichend nachweisbarer Enzymaktivität können die erwähnten Medikamente einnehmen. Sehr selten kommt es zu einer chronischen hämolytischen Anämie, diese kann dann zusätzlich durch oxidative Noxen verstärkt werden (1).

Diagnostik, Test

Molekulargenetische Methoden haben wegen der grossen Anzahl bekannter Mutationen sowie der meist fehlenden prognostischen Bedeutung aktuell kaum in die diagnostische Vorgehensweise Einzug gehalten (Ausnahme evtl. chronische hämolytische Formen mit schwerer Anämie). Der in unserem Labor verwendete semiquantitative Test misst die durch G6PD entstehende Konzentration von NADPH anhand einer photometrisch bestimmten Extinktionsänderung. Mit diesem Test können Hemi- und Homozygote und mit relativ hoher Sicherheit auch heterozygote Patienten diagnostiziert werden. Immer muss aber der Retikulozytenanteil wegen der dort erhöhten Enzymaktivität berücksichtigt werden, Untersuchungen (v.a. bei Bestimmungen in der Neonatalperiode) sollten zudem wiederholt werden.

Pyruvatkinase-Mangel

Fall 2. Homozygoter PK-Mangel

Ein neugeborener Knabe konsanguiner Eltern benötigte bereits am zweiten Lebensstag eine Erythrozytentransfusion (Austausch von 200% des kindlichen Blutvolumens) aufgrund ei-



Bild 1: Favabohnen ©Swiss Medical Forum

Diagnostic et prise en charge des déficits enzymatiques érythrocytaires chez l'adulte et l'enfant

Les déficits en glucose-6 phosphate déshydrogénase (G6PD) et en pyruvate kinase (PK) sont les formes les plus fréquentes d'enzymopathies héréditaires influant sur la glycolyse et entraînant une hémolyse chronique ou évoluant par poussées. Ces maladies peuvent se manifester dès la naissance et la petite enfance par un ictère néonatal et des signes d'hémolyse d'intensité variable. Dans le cadre du déficit hémizygotique ou homozygotique en G6PD, certains médicaments, notamment des antibiotiques, des antipaludéens, des anesthésiques locaux et des antidiabétiques, sont contre-indiqués. La rapidité et la sensibilité du diagnostic grâce à la mesure quantitative de l'activité enzymatique par photométrie dans des quantités minimales de sang peuvent accélérer la prise en charge correcte et les conseils adaptés.

ner schweren Hyperbilirubinämie mit Ikterus praecox bei massiver neonataler hämolytischer Anämie, (Hb 79 g/L, Hkt 26%). Eine Rhesus- oder Kell-Inkompatibilität sowie andere antierythrozytäre Alloantikörper wurden bei zudem identischer Mutter-Kind-Blutgruppenkonstellation ausgeschlossen. In der initialen ausgiebigen hämatologischen Diagnostik fanden sich keine Hinweise auf eine Hämoglobinopathie, einen Erythrozytenmembrandefekt und auch keine auf eine Enzymopathie. Da diese Abklärungen erst nach Durchführung der Austauschtransfusion möglich waren, ergaben sich falsch negative und nur bedingt aussagekräftige Ergebnisse. Die Knochenmarkuntersuchung zeigte eine gute Zellularität mit gesteigerter Erythropoese; weitere Abklärungen bezüglich kongenitaler Knochenmarkkrankungen (i.e. Fanconi-Anämie, Blackfan-Diamond-Anämie, Dyskeratosis congenita) waren ebenfalls negativ. Eine Wiederholung der Untersuchung der Enzymaktivität ergaben dann einen leicht erhöhten G6PD/PK-Quotienten. Zur Diagnose eines homozygoten Pyruvatkinase-Mangels führte eine molekulargenetische Untersuchung des PKLR-Gens im Alter von neun Monaten (Mutation im Exon 3 c.172C>T, p.Gln58>Stop), welche im Hinblick auf die Erythrozytentransfusionen erfolgte.

Genetik, Klinik

Der Pyruvatkinase(PK)-Mangel ist der häufigste Defekt eines Enzyms des Glykolyse-Stoffwechsels. Die Vererbung

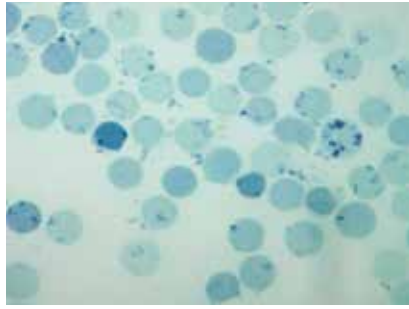


Bild 2A: Heinz-Innenkörper,
©Kinderspital Zürich

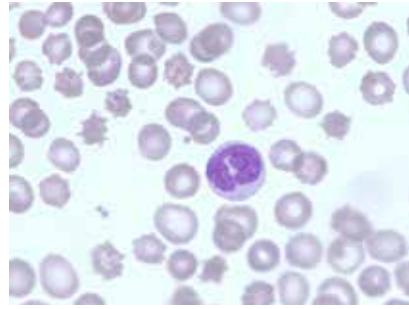


Bild 2B: Echynozysten
©Kinderspital Zürich

ist autosomal rezessiv. Das Enzym ist ein Tetramer und hat verschiedene verwandte Enzyme in anderen Geweben (Herz, Muskel, Hirn u.a.). Mehr als 190 Mutationen im PKLR-Gen (Pyruvatkinase-Liver-Redcell-Gene) wurden beschrieben, bei Europäern werden vorwiegend 1456 C>T (Südeuropa) und 1529 G>A (Mitteleuropa, USA) gefunden (5; 7).

Beim PK-Mangel kommt es durch die molekular bedingten Veränderungen der PK zur verminderten Bildung von ATP, Pyruvat und NAD. Auch entsteht bei PK-Mangel vermehrt 2,3-Diphosphoglycerat. Dies reduziert die O₂-Affinität des Hämoglobins (Hb); es kommt zu einem Rechts-Shift der Hill-Kurve; dies reduziert die O₂-Affinität des Hbs und ermöglicht den Betroffenen, tiefe Hb-Konzentrationen besser zu tolerie-

ren als andere Anämiepatienten.

Eine Präsentation mit postnataler Hyperbilirubinämie, mit evtl. nötiger Austauschtransfusion, kann zu einer frühen Diagnose bereits in der Neonatalperiode führen. Typischerweise steht die Hyperbilirubinämie im Vordergrund («More jaundice than anemia»). Dagegen kann bei anderen Patienten eine milde kompensierte Hämolyse lang unbemerkt bestehen; der Enzymdefekt wird als Zufallsbefund evtl. dann erst im Erwachsenenalter erkannt.

Bei Betroffenen besteht eine hyperregeneratorische hämolytische Anämie von unterschiedlicher Ausprägung. Typisch ist eine normo-, evtl. makrozytäre Anämie mit Echynozysten (Bild 2B). Ein Teil der homozygoten oder compound-heterozygoten Patienten ist transfusionsabhängig, oft aber verläuft

die Erkrankung auch nur mit einer milden kompensierten Anämie. Vereinzelt zeigen auch Heterozygote eine symptomatische Anämie. Bei symptomatischen Patienten kann bei einer Mehrheit eine Besserung durch eine totale oder subtotale Splenektomie erreicht werden. Nach der Milzentfernung wird mit einer Besserung der Anämie auch meist eine Steigerung der Retikulozytenzahl auf hohe Werte von 100 bis 1000% beobachtet (7). Bei einzelnen schwer symptomatischen Patienten wurde eine allogene Knochenmarktransplantation durchgeführt. Eine neue Therapieform ist die Enzymsubstitution mit einem pharmakologischen Compound (AG-348, Mitapivat, Agios Pharmaceuticals). Mit diesem konnte bei erwachsenen Patienten mit PK-Mangel eine Steigerung der basalen Hämoglobinwerte und eine Reduktion des Transfusionsbedarfs gezeigt werden.

Diagnostik

Die Aktivität der Pyruvatkinase (und evtl. Substrate und Metaboliten) können im Hämolsat gemessen werden. Die gemessene Aktivität wird jedoch stark durch den Retikulozytenanteil beeinflusst. Retikulozyten ATP unabhängig von der oxidativen Glucose phospho-

Enzymdefekt	Prävalenz Fallberichte in Literatur	Vererbung	Chron. Hämolyse, Morphologie	Symptome	Besonderheit
Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-Mangel (Favismus)	Häufig Malaria-Endemiegebiete	X-chromosomal	Selten chron. Heinz-Innenkörper	Häufig schubweise Icterus neonatorum	Cave Favabohnen! Bestimmte Medikamente kontraindiziert
Pyruvatkinasemangel	0.5–1: 100 000 v.a. Europa, USA, selten auch Asien	autosomal-rezessiv	Meist chron., variabler Schweregrad Heinz-Innenkörper	Icterus neonatorum Splenomegalie	Ansprechen auf Splenektomie Enzymsubstitution (AG-348, Mitapivat, Phase-III-Studien) Cave: Hohe ASA - Dosen kontraindiziert SZT?
Triosephosphat-isomerasemangel	Sehr selten 50 Fälle	autosomal-rezessiv	Chron. Hämolyse Ec-Morphologie normal	Neurodegenerative Erkrankung, oft letal	SZT?
Phosphofruktokinase-Mangel = Glycogenose Typ VII M. Tarui	Sehr selten <100 Fälle	autosomal-rezessiv	Chron. Hämolyse, Ec-Morphologie normal, Myoglobinurie	Hämolytische Anämie und Myopathie Belastungs-unverträglichkeit	Evtl. Transfusionen
Pyrimidin-5-Nukleotidase-Mangel	Sehr selten Case-Serien	autosomal-rezessiv	Milde Hämolyse-Basophilie-Tüpfelung	Splenomegalie	DD Bleivergiftung Literatur Zanella et al 2006
Methämoglobinindaphorase-Mangel (Zytochrom-B-Reduktase-Mangel)	Sehr selten	autosomal-rezessiv	Methämoglobin	Zyanotisches Kolorit ab Geburt Typ I nur Ec-betroffen, Typ II generalisiert, schwere neurologische Symptome	Therapie Vitamin C Methylenblaugabe

Tabelle 2: Angeborene Enzymdefekte als Ursachen hämolytischer Anämien

rileirung erzeugen können. Die gemessene Pyruvatkinase-Aktivität korreliert zudem wenig mit der Schwere der Anämie und Klink (5, 6). Ein deutlich erhöhter Quotient der Pyruvatkinase-/Glucose-6-P-Dehydrogenase-Aktivität ist dann ein wichtiger diagnostischer Hinweis. Molekulargenetische Methoden sind heute zur definitiven Diagnosestellung erforderlich.

Andere Enzymdefekte

Weitere sehr seltene Enzymdefekte sind in Tabelle 2 aufgelistet. Beim Triosephosphatisomerasemangel kommt es in den Ec und anderen Körperzellen zu einem Anstau von toxischem Dihydroxyazetonphosphat. Bei dieser sehr seltenen autosomal rezessiven Enzymkrankung kommt es neben der Hämolyse zu degenerativen neuromuskulären Veränderungen, die schon im Kleinkindesalter zum Tod führen. Hexokinase-, Phosphoglucosomerase- und Phosphofrucokinase-mangel sind

weitere sehr seltene Enzymdefekt der Ec-Glykolyse, welche zu hämolytischer Anämie führen können (8).

Methämoglobin wird häufiger durch verschiedene exogene Einwirkungen erzeugt; es führt bei >10% Met-Hb-Anteil zu einem zyanotischen Haut- und Schleimhautkolorit; der vererbte Methämoglobindiaphorase-mangel-Typ I-IV dagegen ist sehr selten. Beim Typ I sind nur die Enzyme der Ec betroffen,

der generalisierte oft letale Typ II führt sehr früh zu progredienten neurologischen Symptomen und Leberversagen. Wenn ein Therapiebedarf besteht, kann Vitamin C (0.5–1 g/d) und/oder Methylenblau (1%-Lösung, 1–2 ml/kg) eingesetzt werden (8).

Korrespondenz
markus.schmugge@kispi.uzh.ch

Referenzen

1. M. D. Cappellini, G. Fiorelli, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 371, 64–74 (2008).
2. L. Luzzatto, P. Arese, Favism and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *N Engl J Med* 378, 60–71 (2018).
3. E. T. Nkhoma, C. Poole, V. Vannappagari, S. A. Hall, E. Beutler, The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 42, 267–278 (2009).
4. P. Bianchi et al., Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol* 94, 149–161 (2019).
5. P. Bianchi, E. Fermo, Molecular heterogeneity of pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* 105, 2218–2228 (2020).
6. R. F. Grace, D. Mark Layton, W. Barcellini, How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol* 184, 721–734 (2019).
7. M. H. Secret et al., Prevalence of pyruvate kinase deficiency: A systematic literature review. *Eur J Haematol* 105, 173–184 (2020).
8. S. H. Orkin, D. G. Nathan et al. *Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood*; 8th ed: Chapter 17 and 18. Saunders 2014.



SARS-CoV-2 Total Assay

Unser wissenschaftlicher Beitrag zum Schutz der Bevölkerung

Gesamtantikörpertest für ein genaueres klinisches Bild des Infektionsstatus und der Immunantwort

siemens-healthineers.ch