

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik mit Sozialpädiatrischem Zentrum  
im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Christoph Klein

Abteilung für pädiatrische Hämostaseologie

Leiterin: PD Dr. med. Karin Kurnik

**Diagnostik, Verlauf und Therapie der leichten Hämophilie A  
im Vergleich zur schweren Form**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Susanne Knorr

aus Lauf an der Pegnitz

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter:	PD. Dr. med. Karin Kurnik
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Reinhard Henschler Prof. Dr. Daniel Teupser
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. Christoph Bidlingmaier
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	19.07.2012

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Die Blutgerinnung .....	1
1.1.1 Überblick.....	1
1.1.2 Die Rolle des Faktor VIII .....	4
1.2 Was ist Hämophilie? .....	5
1.2.1 Geschichte.....	6
1.2.2 Vererbungsmechanismus .....	7
1.2.3 Epidemiologie .....	8
1.2.4 Molekularbiologie und Genetik .....	10
1.2.5 Krankheitsbild .....	13
1.2.6 Diagnose.....	16
1.2.7 Therapie.....	18
1.2.8 Komplikationen .....	20
1.2.9 Prognose .....	21
<b>2. Zielsetzung</b> .....	<b>23</b>
<b>3. Material und Methoden</b> .....	<b>25</b>
3.1 Studienform .....	25
3.2 Patientenauswahl und Gruppenbildung.....	25
3.3 Daten der Patientengruppen .....	26
3.4 Labormethoden.....	27
3.4.1 aPTT Bestimmung .....	27
3.4.2 Lupusinhibitor-Diagnostik.....	27
3.4.3 Diagnostik des von Willebrand-Syndroms .....	27
3.4.4 Hepatopathie.....	27
3.4.5 Ermittlung der Faktor VIII Restaktivität .....	28
3.4.6 Genetische Diagnostik der Hämophilie A .....	28
3.4.7 Thrombophilie-Diagnostik.....	28
3.5 Auswertung.....	28
3.5.1 Aktenstudium .....	28
3.5.2 Angewandte statistische Methoden .....	30
<b>4. Ergebnisse</b> .....	<b>31</b>
4.1 Diagnose.....	31

4.1.1 Grund für Diagnostik .....	31
4.1.2 Diagnostik aufgrund einer Blutung .....	32
4.1.3 Diagnostik aufgrund einer Nachblutung (OP) .....	34
4.1.4 Rolle der Familienanamnese bei der Diagnose .....	34
4.1.5 Alter bei Diagnose.....	35
4.1.6 Operationen .....	37
4.2 Aussagekraft der aPTT .....	38
4.3 Faktor VIII Aktivität im Verlauf .....	39
4.4 Genetische Diagnostik .....	40
4.5 Klinische Manifestation der leichten Hämophilie A .....	46
4.5.1 Erste Blutung .....	46
4.5.2 Erste Substitution .....	48
4.5.3 Gelenkblutung.....	50
4.5.4 Hämophiliearthropathie .....	52
4.5.5 Klinische Präsentation von Subhämophilie A und milder HA.....	55
4.6 Therapie.....	56
4.6.1 Substitutionsschema .....	56
4.6.2 Faktorverbrauch.....	57
4.6.3 Klinikbesuche.....	62
4.7 Zusätzliche Erkrankungen.....	65
4.7.1 Prothrombotische Risikofaktoren.....	65
4.7.2 ADHS.....	67
4.7.3 von-Willebrand-Syndrom.....	67
4.7.4 Infektionen .....	67
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>68</b>
5.1 Diskussion der Klassifizierungsmöglichkeiten .....	68
5.2 Diskussion der Patientendaten und Auswertungsverfahren.....	70
5.3 Diskussion der Diagnoseergebnisse .....	70
5.4 Diskussion der aPTT Werte .....	74
5.5 Diskussion der FVIII Werte.....	75
5.6 Diskussion der Ergebnisse der DNA Untersuchungen .....	76
5.7 Diskussion der Gelenksituation.....	77
5.8 Vorschläge zur Therapieverbesserung.....	78

<b>6. Zusammenfassung und Ausblick.....</b>	<b>80</b>
<b>7. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>83</b>
<b>8. Anhang .....</b>	<b>90</b>
8.1 Abkürzungen.....	90
8.2 Abbildungen.....	91
8.3 Tabellen.....	93
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>94</b>
<b>10. Veröffentlichungen.....</b>	<b>95</b>
<b>11. Lebenslauf .....</b>	<b>96</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Die Blutgerinnung

### 1.1.1 Überblick

Zum besseren Verständnis wird die Hämostase in zwei unterschiedliche Systeme geteilt, auch wenn sie fließend ineinander übergehen. Dabei bewirkt die primäre Hämostase bei einer oberflächlichen Hautverletzung innerhalb weniger Minuten einen Blutungsstillstand. Dies erfolgt durch das sofortige Abdichten der Verletzungsstelle mittels einer reflektorischen Gefäßkonstriktion sowie Plättchenaggregation. Um eine dauerhafte Blutstillung, vor allem bei größeren Verletzungen, zu erreichen, bedarf es der sekundären Hämostase. Hierbei kommt es im Rahmen der plasmatischen Gerinnung zur Fibrinbildung. Dieses Fibringerinnsel bildet zusammen mit den vorhandenen Plättchenaggregaten einen irreversiblen hämostatischen Pfropf. Nach 24 bis 28 Stunden besteht das Gerinnsel nur noch aus Fibrin, da die Plättchen einer Autolyse unterliegen. Damit die Thrombusbildung auf den Verletzungsort beschränkt bleibt und es zu keiner überschießenden Gerinnung kommt, gibt es Gerinnungsinhibitoren und das Fibrinolyse-System [1-2].

### Primäre Hämostase

Die Vasokonstriktion, deren Ursachen weitgehend ungeklärt sind, wird durch eine Kontraktion der glatten Muskulatur der Gefäßwand hervorgerufen und führt zu einem verminderten Blutfluss im verletzten Gebiet. Allerdings kann dadurch eine Läsion nur kurzfristig und nur in einem kleinen Gefäß abgedichtet werden.

Die Rolle der Thrombozyten beinhaltet zwei wichtige Aufgaben: die Bildung des Plättchenpfropfs und die Bereitstellung der für die plasmatische Gerinnung notwendigen Phospholipide (PL). Als Erstes kommt es an der Stelle des Gefäßschadens durch den Kontakt mit subendothelialen Strukturen wie z.B. Kollagen zu einer Plättchenanlagerung, die durch den von-Willebrand-Faktor (vWF) vermittelt wird. Im Rahmen dieser Aktivierung vollführen die Thrombozyten einen Formwandel und wechseln von einer Scheibenform in eine räumliche Form mit Pseudopodien. Außerdem schütten sie verschiedene Sekretionsprodukte aus, die alle eine verstärkende Wirkung auf eine weitere Thrombozytenaktivierung und den Ablauf der plasmatischen Gerinnung haben. Während dieser Thrombozytenaktivierung werden PL auf der Außenfläche der Thrombozytenmembran exponiert, welche als Bindungsoberfläche für Gerinnungsproteine dienen.

Der letzte Schritt besteht in der Zusammenlagerung der aktivierten Thrombozyten untereinander. Dazu bildet Fibrinogen eine Brücke zwischen aktivierten Rezeptoren auf

den Thrombozytenoberflächen. Letztlich verschmelzen die Thrombozyten unter Verlust ihrer Membran [1].

### Sekundäre Hämostase – Das plasmatische Gerinnungssystem

Die Blutgerinnung wird durch die aufeinander folgende Aktivierung von Gerinnungsfaktoren reguliert. Das Endprodukt der komplexen Reaktionen ist die Bildung von Thrombin, welches lösliches Fibrinogen in unlösliches Fibrin umwandelt. Bei den Gerinnungsfaktoren handelt es sich um Glykoproteine, die als Enzyme oder Kofaktoren wirken und mit römischen Ziffern bezeichnet werden (Tabelle 1), wobei die Bezeichnungen III, IV und VI nicht mehr verwendet werden. Zur Kennzeichnung ihres aktivierten Zustandes wird „a“ an die Ziffer angefügt. Die Plasmakonzentrationen der Gerinnungsfaktoren sind bis auf die des Fibrinogen sehr gering.

Faktor	Synonym	Plasma-konzentration [mg/dl]	Halbwertszeit [h]	Erwachsenenwert erreicht
<b>I</b>	Fibrinogen	200 - 450	110 - 112	bei Geburt
<b>II</b>	Prothrombin	5 - 10	41 - 72	nach 6 Monaten
<b>V</b>	Proaccelerin	1	12 - 15	bei Geburt
<b>VII</b>	Proconvertin	~ 0,1	2 - 5	nach 6 Monaten
<b>VIII</b>	Antihämophiles Globulin A	0,5 - 1	10 - 18	bei Geburt
<b>IX</b>	Christmas Faktor	0,5 - 0,7	18 - 30	nach 6 Monaten
<b>X</b>	Stuart-Prower-Faktor	1	20 - 42	nach 6 Monaten
<b>XI</b>	Plasma-Thromboplastin-Antecedent	~ 0,6	10 - 20	nach 6 Monaten
<b>XII</b>	Hageman-Faktor	1,5 - 4,7	50 - 70	nach 6 Monaten
<b>XIII</b>	Fibrin-stabilisierender-Faktor	1,0 - 4,0	100 - 120	nach 1 Woche
<b>VWF</b>	Von-Willebrand-Faktor	2 - 10	6 - 12	nach 6-12 Monaten

Tab. 1: Gerinnungsfaktoren [2-3]

Die Faktoren II, VII, IX, X, XI und XII sind Serinproteasen, die als inaktive Vorstufen im Blut vorliegen. Die Faktoren V und VIII sind dagegen keine Enzyme, sondern Kofaktoren, welche die Geschwindigkeit des Reaktionsablaufs modifizieren. Bis auf den vWF, der von Endothelzellen gebildet wird, findet die Synthese der Gerinnungsfaktoren in der Leber statt. Für die Bildung der Faktoren II, VII, IX und X ist Vitamin K notwendig.

Die plasmatische Gerinnung kann zum besseren Verständnis in das intrinsische und extrinsische System sowie deren gemeinsame Endstrecke unterteilt werden (Abbildung 1). In vivo existieren eine Reihe von „Feedback-Mechanismen“ und Verbindungen zwischen beiden Systemen, aber die historische Einteilung erleichtert u. a. die Interpretation der klassischen plasmatischen Gerinnungstests, wie dem Quick, der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und der Thrombinzeit.

Das intrinsische System wird an Fremdoberflächen wie defekten Gefäßstrukturen mit der Aktivierung des FXII gestartet. Dagegen wird das extrinsische System durch den Kontakt mit Gewebsthromboplastin („tissue factor“, TF) - einem Bestandteil nichtvaskulärer Zellen - über den FVII aktiviert. Laut dem zellbasierten Modell der Gerinnung finden die Reaktionen an den PL statt. Beim intrinsischen System an den PL der aktivierten Thrombozyten und beim extrinsischen System an denen des TF.

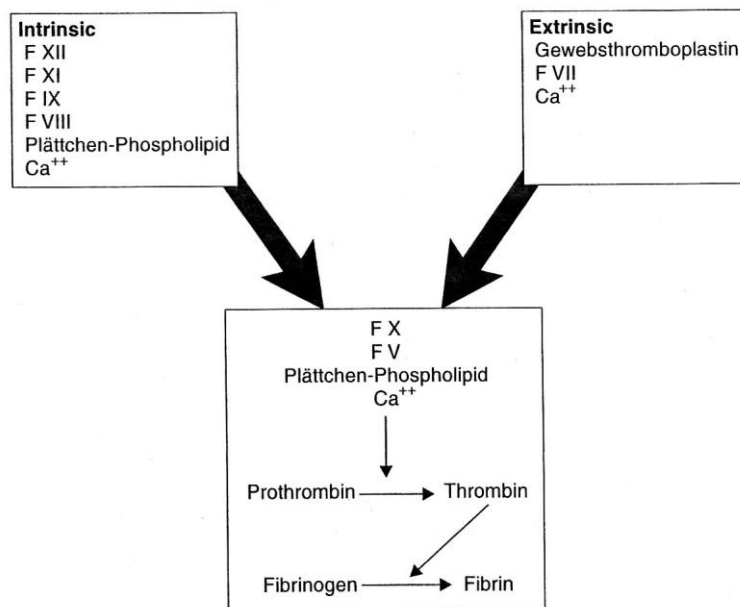


Abb. 1: Intrinsisches und extrinsisches System sowie gemeinsame Endstrecke [1]

In der Gerinnungskaskade gibt es drei zentrale und fundamentale Enzymkomplexe. Einmal die beiden FX aktivierenden Komplexe, bestehend aus FIX und seinem Kofaktor VIII (intrinsisches System) sowie dem Komplex aus FVII und TF (extrinsisches System). Beim dritten Komplex handelt es sich um FXa und FVa (Prothrombinasekomplex), welcher für die Thrombinbildung verantwortlich ist. Initiiert wird die Blutgerinnung durch den FVIIa-TF Komplex, wobei die dabei gebildeten kleinen Mengen an FXa und FIXa rasch durch den „Tissue Factor Pathway Inhibitor“(TFPI) und Antithrombin gehemmt werden. Es ist dabei jedoch genug Thrombin entstanden, um Thrombozyten, FV und FVIII zu aktivieren. Nun wird der FIXa-FVIIIa Komplex der Hauptaktivator von FX. Dieser Komplex ist ca. 50mal



effizienter als der FVIIa-TF Komplex und für >90% an gebildetem FXa während des hämostatischen Prozesses verantwortlich [4-5].

Diese Erkenntnisse führen zu der Hypothese, dass das sehr viel schnellere extrinsische System der maßgebliche Initiator der Gerinnung ist, aber für die Hämostase weniger bedeutsam als das intrinsische System. Dieses - getriggert durch das extrinsische System - dient dazu, die Gerinnung aufrecht zu erhalten und ausreichende Mengen an Fibrin zu bilden [1-2, 6].

### **Inhibitoren der Gerinnung und das Fibrinolyse-System**

Als Sicherung gegen einen unkontrollierten Ablauf der kaskadenartig verlaufenden Gerinnung fungiert ein ausgewogenes antagonistisches System. Wichtige Aufgaben bestehen in der Hemmung und Elimination aktivierter Gerinnungsfaktoren, sowie im Abbau überschüssigen Fibrins. Bei einem Defekt oder einer Aktivitätsminderung kann es lokal in einem Gefäß zur Ausbildung einer Thrombose oder generalisiert zu einer disseminierten intravasalen Koagulation kommen. Der bekannteste und wichtigste Inhibitor ist Antithrombin, welches ein breites Wirkungsspektrum aufweist und Serinproteasen inhibiert, aber keinen Einfluss auf die Koenzyme FV und FVIII hat. Seine Reaktion verläuft relativ langsam und wird durch die Anwesenheit von Heparin stark beschleunigt. Ein weiterer bedeutender Inhibitor ist das Protein C, welches FVa und FVIIIa inaktiviert. Während diese Antagonisten der Gerinnungsfaktoren hauptsächlich vor der Fibrinbildung interferieren, baut Plasmin – das wirksame Enzym der Fibrinolyse – bereits gebildetes Fibrin ab [1-2].

#### **1.1.2 Die Rolle des Faktor VIII**

FVIII kommt im Blut in sehr niedrigen Konzentrationen vor, wobei sich in der Literatur unterschiedliche Angaben dazu finden: 0,01-0,02mg/dl [1], 0,1mg/dl [7], 0,5-1mg/dl [2]. Im Plasma liegt er als Komplex mit einem Trägerprotein, dem vWF, vor. Auf diese Weise wird er stabilisiert, vor dem Abbau geschützt, an den Verletzungsort herangeführt und dort an Subendothel sowie Thrombozyten gebunden. Seine Halbwertszeit beträgt ca. 8 bis 12 Stunden [8] und wird bei fehlendem vWF auf 2,4 Stunden verkürzt [9]. Um als Kofaktor der Gerinnung tätig zu werden, muss er allerdings aus seinem Komplex mit dem vWF gelöst werden, was durch Aktivierung mittels limitierter Proteolyse durch Thrombin und FXa geschieht. Bis in die Mitte der 70er Jahre des letzten Jahrhunderts hatte die enge funktionelle Verknüpfung der beiden Moleküle für Verwirrung gesorgt und der vWF wurde als „Factor-VIII-related-Antigen“ oder „Factor-VIII-related-Ristocetin-Cofactor“ bezeichnet. Mittlerweile ist erwiesen, dass es sich bei FVIII und dem vWF um zwei verschiedene Proteine handelt,

die von unterschiedlichen Genen auf zwei verschiedenen Chromosomen kodiert werden.

Wenn FVIII aktiviert wurde, bildet er mit dem durch den FVIIa-TF Komplex generierten FIXa auf der aktivierten Thrombozytenmembran den so genannten Xase Komplex (Abbildung 2). In diesem membrangebundenen Komplex aktiviert FIXa den FX, wobei FVIII die Reaktion um ein Vieltausendfaches beschleunigt.

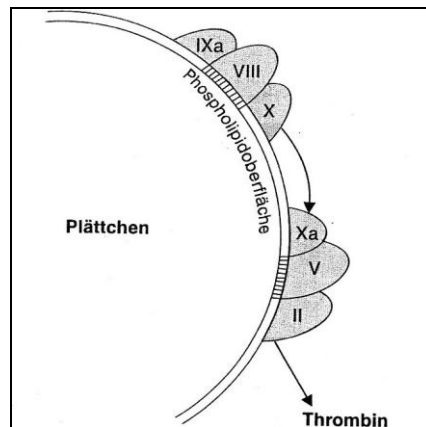


Abb. 2: Xase- und Prothrombinasekomplex [1]

In Abwesenheit des Kofaktors zeigt FIXa nur eine sehr langsame katalytische Aktivität. Bedingungen für die Ausübung der Kofaktor Funktion des FVIII im Xase Komplex sind neben der Anwesenheit von  $Ca^{++}$  drei essentielle Aktionen: Bindung an die PL-Membran, an das Enzym FIXa und an das Substrat FX. Die Hauptrolle der PL-Oberfläche besteht dabei darin, die Komponenten des Xase Komplexes zu konzentrieren und deren Interaktionen vom Plasmavolumen auf die Zelloberfläche zu beschränken. Der hierbei gebildete FXa wird im Gegensatz zum extrinsischen System sofort in den Prothrombinase Komplex der Thrombozytenoberfläche integriert und löst so, geschützt vor der Inaktivierung durch TFPI und Antithrombin, eine explosionsartige Bildung von Thrombin aus [1, 6, 10].

Für den FVIIIa gibt es nur einen spezifischen Inhibitor, das bereits erwähnte Protein C. Es verhindert, dass FVIIIa vom Verletzungsort in die Zirkulation abtreibt.

## 1.2 Was ist Hämophilie?

Die Hämophilie ist die zweithäufigste angeborene Blutgerinnungsstörung, X-chromosomal rezessiv vererbbar und aufgrund dieses Erbgangs fast nur auf Männer beschränkt. Der Begriff „Hämo-philie“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet „Blut-Neigung“. Andere Bezeichnungen für diese Krankheit sind unter anderem „Bluterkrankheit“ oder „Krankheit der Könige“. Es werden hauptsächlich zwei Formen der Erkrankung unterschieden: Hämophilie A („klassische Hämophilie“, 85%) und

Hämophilie B („Christmas-disease“, 15%). Die Ursache für die Hämophilie ist ein Mangel, ein Fehlen oder die unzureichende Funktion eines bestimmten Gerinnungsfaktors. Bei der Hämophilie A (HA) handelt es sich dabei um den FVIII und bei der Hämophilie B (HB) um den FIX. Beide Faktoren gehören zum intrinsischen Teil der Gerinnungskaskade, dem Hauptweg der Blutgerinnung. Die Häufigkeit der HA ist durch die hohe Mutationsrate des FVIII Gens begründet. Daneben gibt es noch die sehr seltene Hämophilie C, beruhend auf einem FXI Mangel. Bei dieser Erkrankung ist die Blutungsneigung meist nur leicht ausgeprägt.

Tritt bei Menschen mit Hämophilie eine Blutung auf, verläuft die primäre Hämostase völlig normal. Es kommt zur Ausbildung eines Thrombozytenpfropfs, der die Wunde notfallmäßig verschließt. Da aber letztlich das für die Bildung von Fibrin so wichtige intrinsische System beeinträchtigt ist, wird die Wunde nicht richtig verschlossen und kann immer wieder aufbrechen. Ohne Behandlung kann die Blutung über Tage und Wochen anhalten. Im speziellen entfällt bei der Hämophilie die ausreichende Bildung von an der Thrombozytenoberfläche aktiviertem FXa. Auch ist insgesamt die Blutungsneigung erhöht, da kleine Blutungen im Körper, die normalerweise nicht bemerkt werden, nicht sofort zum Stillstand gebracht werden [11-12].

Der klinische Schweregrad einer Hämophilie korreliert mit den Aktivitätsgraden der Gerinnungsfaktoren. Gemäß dem Scientific Subcommittee on Factor VIII and Factor IX of the Scientific and Standardization Committee (SSC) of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) lassen sich drei Klassen unterscheiden [13]:

<b>Schweregrad</b>	<b>Restaktivität</b>
Severe (Schwer)	< 1%
Moderate (Mittel)	1 - 5%
Mild (Leicht)	> 5 ≤ 40%

*Tab. 2: Hämophilie-Klassifizierung der ISTH*

Jedoch ist vor allem die obere Grenze der leichten Hämophilie vage und kann in verschiedenen Publikationen von 25 bis 50% variieren. Der Normbereich wird von den meisten Laboren mit 50 bis 150% angegeben [14].

### **1.2.1 Geschichte**

Die erste schriftliche Erwähnung von Blutern findet sich aus dem 2. Jahrhundert vor Christus im jüdischen Talmud. Dort heißt es, dass wenn zwei Jungen bei der Beschneidung verblutet sind, alle weiteren Söhne der Mutter, ihrer Töchter und Schwestern von der sonst zwingenden Beschneidung ausgenommen sind. Auch der

große arabische Arzt Khalaf Ibn Abbas (1013 – 1106 n. Chr.) erwähnt ein Dorf mit einer auffälligen Anzahl von Männern, die nach harmlosen Verletzungen verbluteten. Die wissenschaftliche Erstbeschreibung der Hämophilie als „hemorrhagic disposition“ stammt von dem Amerikaner Otto (1803). Er beschrieb alle klinischen Symptome und erkannte die Erblichkeit, nämlich dass nur Männer erkranken und Frauen Überträgerinnen (Konduktorinnen) sind. Der Begriff „Hämophilie“ wurde von dem Deutschen Johann Lucas Schönlein (1839) geprägt. Obwohl es sich bei der Hämophilie um eine seltene Erkrankung handelt, ist sie aufgrund der weiten Verbreitung in den europäischen Fürstenthümern im Bewusstsein der Öffentlichkeit präsent. Als erste bekannte Konduktorin gilt Königin Victoria von Großbritannien und Irland, die das Hämophilie-Gen an mehrere Zweige der Familie weitergab.

Erst Anfang der 50er Jahre des letzten Jahrhunderts war es möglich, mittels des Nachweises des FVIII- bzw. des FIX-Mangels, zwischen der HA und HB zu differenzieren, da die globale Gerinnungszeit bei beiden Formen gleichermaßen verlängert, die klinische Symptomatik vergleichbar und der X-chromosomale Erbgang identisch sind. Im Weiteren soll jedoch nicht näher auf die HB eingegangen werden, da sich die vorliegende Studie ausschließlich mit Patienten mit HA befasst.

1971 war man dann durch die Synthese eines Antikörpers gegen den FVIII in der Lage, die HA vom von-Willebrand-Syndrom (vWS) abzugrenzen. Es stellte sich heraus, dass es sich beim vWS um die häufigste angeborene hämorrhagische Diathese handelt, allerdings mit erheblicher Variabilität des klinischen Erscheinungsbildes. Das gemeinsame Merkmal dieser Gruppe von hämorrhagischen Diathesen besteht in einer quantitativen oder qualitativen Abweichung des vWF. Allerdings ist nur ein Bruchteil der laboranalytisch diagnostizierten Fälle (1 bis 3%) klinisch relevant. Man unterscheidet drei Typen des vWS:

- Typ 1: partieller quantitativer Defekt ( ca. 68%)
- Typ 2: qualitative Defekte (Typ 2A, Typ 2B, Typ 2M, Typ 2N) (ca. 25%)
- Typ 3: kompletter quantitativer Defekt (ca. 7%)

Im Vergleich zur Hämophilie ist die Blutungszeit verlängert und es liegt ein autosomaler Erbgang vor [1, 7, 11, 15].

### **1.2.2 Vererbungsmechanismus**

Da die Störungen, die zur HA führen, auf dem langen Arm des X-Chromosoms an der Position Xq28 liegen, ist der Erbgang geschlechtsgebunden und rezessiv. Heterozygote Frauen mit zwei X-Chromosomen weisen eine Mutation auf einem Chromosom auf und haben wegen des kompensierenden normalen Gens ungefähr eine FVIII Aktivität um 50%. Bei einer ungleichmäßigen Inaktivierung der X-Chromosomen oder Vorliegen einer Homozygotie bzw. Compound-Heterozygotie

können sie niedrigere FVIII Aktivitäten haben und von einer klinisch bedeutsamen Hämophilie betroffen sein. In mehreren Studien wurde festgestellt, dass Konduktorinnen im Vergleich zu Nicht-Konduktorinnen mehr Blutungssymptome aufweisen. Dabei korreliert die Blutungstendenz direkt mit dem FVIII Spiegel im Plasma [12, 16-18].

### Erbgang

Aus der Verbindung einer Konduktorin mit einem gesunden Mann entspringen mit 50%iger Wahrscheinlichkeit Söhne mit Hämophilie oder Töchter, die Konduktorinnen sind. Die Nachkommen eines an Hämophilie erkrankten Mannes mit einer gesunden Frau sind gesunde Söhne, die Töchter dagegen Konduktorinnen. Aus der Verbindung einer Konduktorin mit einem Hämophilen sind die Töchter mit jeweils 50%iger Wahrscheinlichkeit Konduktorinnen oder Bluter. Die männlichen Nachkommen sind zu 50% Hämophile.

Allerdings lässt sich bei etwa 30 bis 40% der Patienten die Vererbung nicht zurückverfolgen, d.h. die Familienanamnese ist leer. Dann handelt es sich um eine spontane Veränderung des Gens [1].

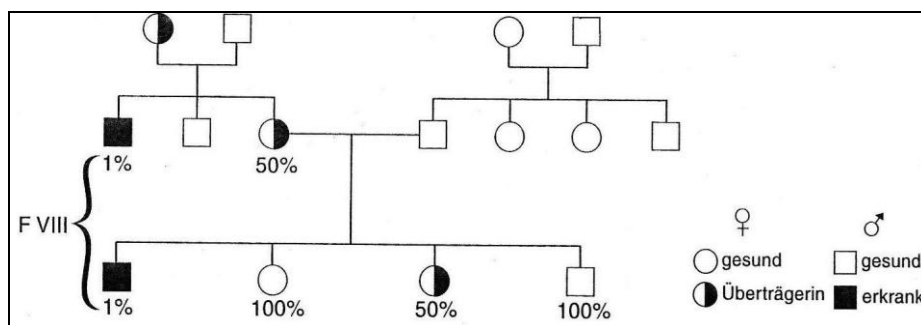


Abb. 3: Beispiel für den Vererbungsmodus bei Hämophilie. FVIII Aktivität in % [1]

### 1.2.3 Epidemiologie

Die Hämophilie ist eine seltene angeborene Störung der Gerinnung. Laut der World Federation of Hemophilia (WFH) wird einer von 10.000 Menschen mit HA geboren [19]. In einer neuen Studie wurden die Daten von 106 Ländern der *Annual Global Surveys* der WFH bezüglich der HA Prävalenz ausgewertet und es wurde gezeigt, dass sie beträchtlich zwischen den einzelnen Ländern schwankt. In Ländern mit hohem Einkommen liegt sie der Studie zufolge bei 1,28 pro 10.000 Männern mit einer Standardabweichung (SA) von 0,6 und in der restlichen Welt bei 0,66 mit einer SA von 0,48 [20]. In Deutschland gehört die Hämophilie nicht zu den meldepflichtigen Erkrankungen und statistische Erhebungen basieren daher auf freiwilligen Angaben

der behandelnden Ärzte über die Anzahl betreuter Betroffener. Ein gesamtdeutsches Register für Patienten mit Hämophilie wurde 2009 initiiert (<https://www.dhr.pei.de>). Aber mit einer Bevölkerungszahl von etwa 80 Millionen Menschen müssten nach den obigen Angaben ungefähr 4.000 bis 8.000 Männer in Deutschland mit HA leben. Die jährliche multizentrische Untersuchung zur Epidemiologie bei Patienten mit Hämophilie ergab für den Untersuchungszeitraum 2008/2009 insgesamt 3.957 Patienten mit HA an 66 Behandlungszentren [21]. Weltweit leiden laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) über 400.000 Menschen an Hämophilie [12].

Wie groß dabei der Anteil der leichten HA an der Gesamtzahl ist, variiert zwischen den einzelnen Ländern, über die Zeit im selben Land und sogar in verschiedenen Regionen eines Landes. Auch die Höhe des Brutto sozialproduktes korreliert damit (Tabelle 3). Erklärungen für die zum Teil erheblichen Unterschiede sind, dass verfügbare Mittel und das Bewusstsein der Ärzte für Hämophilie eine große Rolle spielen. Über die Jahre kam es zu einer Verbesserung der Diagnosemöglichkeiten, zu gestiegenen Kenntnissen über die Krankheit und zu vermehrter Erforschung der familiären Krankengeschichten. Die Variabilität innerhalb eines Landes hängt von der Organisation sowie der Leistung des Gesundheitswesens ab [14, 22].

<b>Prozentsatz der Leichten Hämophilie A von allen Hämophilie-Patienten</b>					
<b><i>...in verschiedenen Ländern</i></b>					
Land	HA Patienten	Leichte HA (%)	Anzahl der HBZ	Jahr der Veröffentlichung	Quelle
China	5.043	16	6	2007	[23]
Kanada	1.594	51	?	2006	[22]
Italien	2.679	35	41	2006	[24]
Ostdeutschland	670	33	37	2005	[25]
Weltweit	16.115	31	147	2003	[26]
<b><i>...zu verschiedenen Zeiten im selben Land: Schweden</i></b>					
Jahr	Leichte HA (%)	Quelle			
1960	35	[14]			
1980	54				
<b><i>...in verschiedenen Regionen eines Landes</i></b>					
	Leichte HA (%)	Quelle			
Emilia-Romagna	45	[22]			
Italien	35				
<b><i>...in Abhängigkeit vom BSP</i></b>					
Länder mit einem	Leichte HA (%)	Quelle			
BSP pro Kopf > 10.000 US \$	34	[14]			
BSP pro Kopf < 2.000 US \$	18				

HBZ: Hämophiliebehandlungszentren, BSP: Brutto sozialprodukt

Tab. 3: Epidemiologie der Leichten HA

## 1.2.4 Molekularbiologie und Genetik

### FVIII Molekül

Der FVIII ist ein großes Glykoprotein, welches im Blut als ein Zweikettenprotein zirkuliert, das durch Metallionen stabilisiert wird und aus einer variablen schweren Kette sowie einer leichten Kette besteht. In den Leberzellen wird er zunächst als Einkettenprotein synthetisiert und dann innerhalb der B Domäne proteolytisch gespalten, wobei die beiden Ketten entstehen. Die Aminosäuresequenzen zeigen, dass der FVIII aus mehreren, sich zum Teil wiederholenden funktionellen Domänen besteht: drei A-Domänen, eine einzelne B-Domäne und zwei C-Domänen. Die schwere Kette besteht aus den Domänen A1, A2 und einer variablen Länge der B-Domäne. Die leichte Kette besteht aus den Domänen A3, C1 und C2. Die Funktion der B-Domäne ist noch nicht vollständig verstanden, da sie aber im Rahmen der Aktivierung entfernt wird, scheint sie zumindest für die Gerinnungsaktivität ohne Bedeutung zu sein. Auch die Domäne A2 wird durch Thrombin abgespalten, jedoch bleibt sie über schwache elektrostatische Kräfte an A1 und an die Untereinheit A3-C1-C2 gebunden, so dass ein Heterotrimer entsteht. Diese Bindung ist leicht lösbar und erklärt die Instabilität von FVIIIa, da ohne diese Domäne der FVIII inaktiv ist.

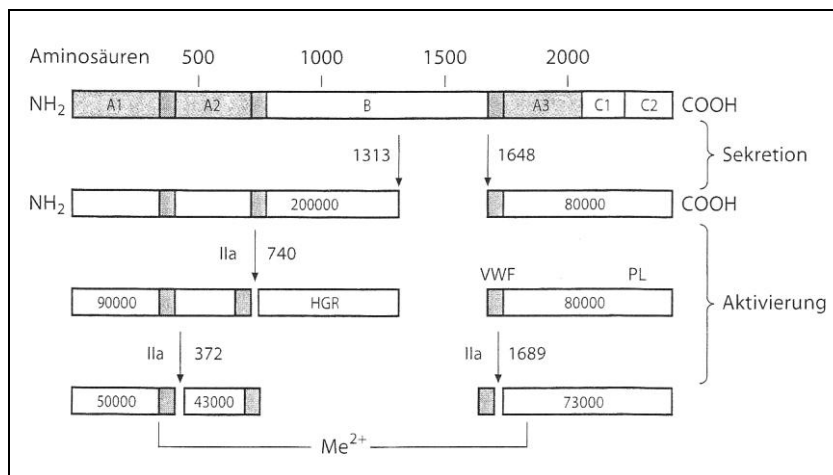


Abb. 4: FVIII [9]

(Zeile 1: intrazelluläre Spaltung, Zeile 3+4: Aktivierung durch Thrombin)

Die Struktur, Funktion und Wirkung der Untereinheiten, die bei der Aktivierung des FVIII entstehen, sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Über sie werden der vWF, Ca<sup>++</sup> und PL gebunden. Insgesamt enthält das FVIII Protein 3 saure Peptidsequenzen, die sich an den Verknüpfungsstellen der Domänen befinden. Sie dienen ebenfalls als Bindungsstellen für den vWF und PL [7, 9].

## FVIII Gen

Das FVIII-Gen besteht aus 26 codierenden Exons, welche durch 25 Introns getrennt sind. Das Intron 22 enthält zwei weitere transkribierte Gene, F8A und F8B, deren Funktion unbekannt ist. Zwei Kopien des F8A finden sich zudem ca. 500 Kilobasen telomerwärts gelegen [27].

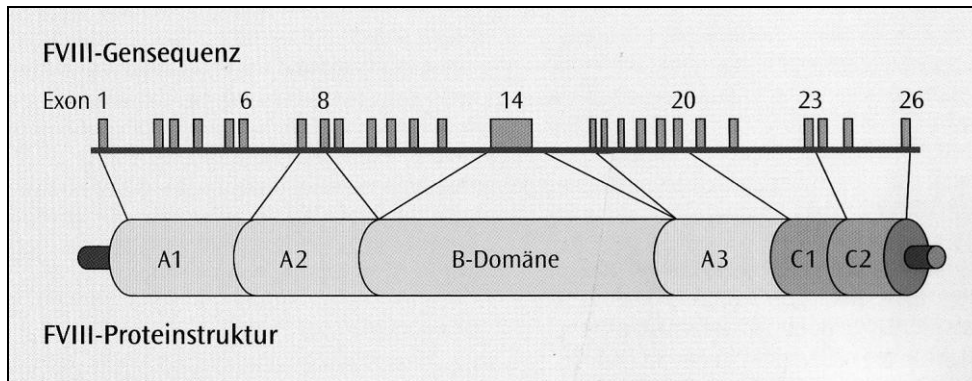


Abb. 5: Genstruktur und Proteinstruktur des FVIII [7]

## Genveränderungen

Seit der Klonierung des FVIII Gens 1984 wurde die DNA von HA Patienten auf Molekulardefekte untersucht. Mittlerweile hat man eine Vielzahl verschiedenster Mutationen gefunden. Die zwei Hauptgruppen machen große DNA Veränderungen und Punktmutationen aus. Zu der ersten Gruppe gehören partielle Inversionen sowie Deletionen und Insertionen. Bei der so genannten Intron-22-Inversion, die für ca. 40% der schweren HA Fälle verantwortlich ist, handelt es sich um eine intrachromosomale Rekombination zwischen den homologen F8A Sequenzen. Deletionen und Insertionen verursachen eine Verschiebung des Leserahmens und führen in den meisten Fällen zu schwerer HA. Zu den Punktmutationen gehören Stopmutationen (vorzeitige Peptidkettenbeendigung), Missensemutationen (resultieren in einem Aminosäureaustausch) und Spleißstellenmutationen (an der Grenze zwischen Intron und Exon).

Die molekulargenetische Untersuchung gehört zum Standard in der Diagnostik von Patienten mit Hämophilie, denn die Mutation liefert Informationen über den Schweregrad der Erkrankung und auch über das Risiko für eine Hemmkörper(Antikörper-)entwicklung. Allerdings können auch identische Mutationstypen zu verschiedenen patientenspezifischen klinischen Ausprägungen führen. Möglicherweise beeinflussen andere nicht bekannte Mutationen die Expressionsstärke des FVIII, die genaue Ursache ist jedoch noch nicht aufgeklärt [7, 9, 12, 27].



Die identifizierten Mutationen werden online in Datenbanken publiziert, u. a. bei „The Haemophilia A Mutation, Structure, Test and Resource Site“, kurz HAMSTeRS (<http://hadb.org.uk>). Tabelle 4 zeigt eine Zusammenfassung der in dieser Datenbank eingetragenen Mutationen. Insgesamt handelt es sich um 2.298 einzelne Berichte. Allerdings werden in der Datenbank keine Inversionen und Spleißstellenmutationen erfasst.

Mutationen	Klinischer Schweregrad der HA		
	Schwer	Mittel	Leicht
Insertionen	129	11	2
Deletionen			
groß	141	4	0
klein	280	18	4
Punktmutationen			
Missense	369	346	705
Stop	281	8	0
Insgesamt	1200	387	711

Tab. 4: Mutationen bei HAMSTeRS

Das Spektrum an Mutationen, die zu einer leichten HA führen, unterscheidet sich, wie man aus der Tabelle ersehen kann, signifikant von jenem, welches zu schwerer HA führt. Es finden sich keine Inversionen und Stopmutationen, in seltenen Fällen kleine Deletionen und Insertionen [14, 28]. Auch wurden Mutationen veröffentlicht, die Spleißstellen (9%) und den Promoter betreffen [28]. Die Hauptursache stellen jedoch Missensemutationen dar [9]. Bei Bogdanova et al. machen sie 76% (112 Patienten) aus [28]. Aber die molekularen Mechanismen, durch welche diese Mutationen zu niedrigen FVIII Spiegeln führen, sind nur teilweise aufgedeckt. Die Mutationen können Stellen betreffen, die zu Defekten führen bei:

- der FVIII Synthese, Prozessierung, Sekretion und Stabilität
- der Aktivierung durch Thrombin
- der Interaktion mit dem vWF
- der Bindung an PL
- der Interaktion mit FIXa [22]

Die Vielfalt an gefundenen Missensemutationen führte allgemein zu einem besseren Verständnis, wie die Proteinstruktur mit der Funktion des FVIII korreliert [27].

Im Vergleich zu den Mutationen, die einen schweren klinischen Phänotyp hervorrufen, verursachen die Aminosäuresubstitutionen keine großen molekularen Stabilitäts- und

Faltungsprobleme. Sie liegen an Orten des FVIII Proteins, wo Änderungen der Konformität eher toleriert werden [28].

Nicht immer ist es möglich, einen Defekt im FVIII-Gen zu finden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass Änderungen in anderen Proteinen, die bei der Faltung, Sekretion oder Stabilität des FVIII involviert sind, die reduzierten FVIII Spiegel hervorrufen. Im Allgemeinen kann der Expressionsgrad eines Gens, d.h. die Menge an gebildeter mRNA, durch viele genetische und epigenetische Faktoren beeinflusst werden. Genetische Faktoren können z.B. enhancers oder silencers betreffen, die weit weg vom tatsächlichen Gen lokalisiert sein können. Ob Patienten mit leichter HA öfter von Defekten auf der RNA Ebene betroffen sind, ist offen [28-30].

### **1.2.5 Krankheitsbild**

Die Häufigkeit und Schwere der Blutungen hängen generell mit der FVIII Aktivität im Blut zusammen [31]. Die Blutungen können dabei überall im Körper auftreten. Nachfolgend sind die am meisten auftretenden Blutungen mit abnehmender Häufigkeit aufgelistet [7]:

- Hämatome
- Gelenkblutungen
- Muskelblutungen
- Nasenbluten
- Bissverletzungen der Mundhöhle
- Blutungen des Magen-Darm-Trakts
- Nierenblutungen
- Hirnblutung

Exzessive Blutungen aus kleinen Schnitt- und Schürfwunden gehören nicht zum Krankheitsbild.

### **Schwere HA**

Die schwere Form der Hämophilie wird meistens im 1. Lebensjahr diagnostiziert. Bereits bei der Geburt können Blutungen auftreten (Kephalhämatom), in seltenen Fällen sogar Hirnblutungen (3,5 bis 4%) [32]. Ohne Operationen und Unfälle verlaufen die ersten Wochen meist komplikationslos. Im zweiten Lebenshalbjahr zeigen sich bei zunehmender Aktivität und Selbständigkeit des Säuglings eine Neigung zu Hämatomen und Mundhöhlenverletzungen. Die kritische Zeit ist die des laufen Lernens, in der es dann zu häufigen Blutungen kommt. Vor allem nimmt das Risiko für Muskel- und Gelenkblutungen, den klassischen Blutungstypen der Hämophilie, zu. Die hauptsächlich betroffenen Gelenke sind Knie, Ellbogen und Sprunggelenke. Unzureichend behandelt führen sie zu dem Krankheitsbild der Hämophilie-

Arthropathie. Durch wiederholte Einblutungen im gleichen Gelenk wird eine entzündliche Reaktion ausgelöst, wodurch sich wiederum die Blutungsneigung erhöht. Letztlich werden Knorpel- und Knochengewebe zerstört. Fehlstellungen und Verformungen der Gelenke, Inaktivitätsatrophien der zugehörigen Muskulatur und Beugekontraktionen sind die Folge. Das Endstadium besteht in der Invalidisierung des Patienten.

Gefahren von Muskelblutungen bestehen in der Ausbildung eines Kompartmentsyndroms, in der Kompression peripherer Nerven mit nachfolgender Lähmung und im Erstickten bei Einblutungen in die Zungen- und Mundbodenmuskulatur.

Charakteristisch für die schwere Hämophilie ist, dass die Blutungen spontan ohne auslösendes Ereignis auftreten können. Allerdings werden spontane Blutungen im Erwachsenenalter seltener und im Vordergrund stehen die Folgeschäden der Gelenk- und Muskelblutungen. Das bedeutet, dass die Blutungsintensität und Lokalisation nicht nur vom Schweregrad sondern auch vom Alter abhängt. Beim beschriebenen Krankheitsbild handelt es sich um das einer behandelten Hämophilie, da dank der heutigen Therapiemöglichkeiten das Problem nicht mehr so sehr in der Verblutungsgefahr sondern in der Bedrohung durch Behinderung aufgrund wiederholter Gelenkblutungen liegt.

Allerdings bluten nicht alle Patienten mit einem Faktor VIII Spiegel  $< 1\%$  mit demselben Schweregrad. Einige Studien zeigen, dass das gleichzeitige Vorliegen prothrombotischer Risikofaktoren wie Faktor-V-Leiden, die Prothrombin-Genmutation (G20210A), Protein C Mangel etc., eine gewisse protektive Funktion haben und zu einem milderem Phänotyp führen [33-36].

### **Mittelschwere HA**

Bei der mittelschweren Hämophilie ist die Blutungsneigung bereits deutlich abgeschwächt. Gelenkblutungen kommen seltener vor, meistens durch ein Trauma hervorgerufen [7, 12, 37].

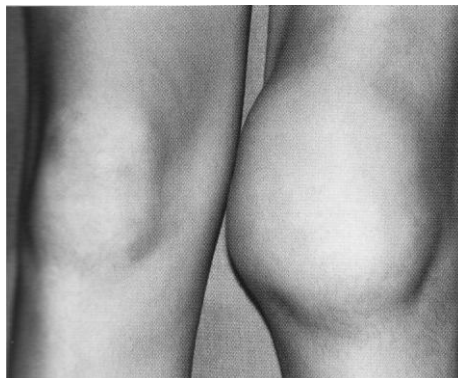
### **Leichte HA**

Im Gegensatz zur schweren Form wird bei Patienten mit leichter HA die Erkrankung oft erst im Jugend- und Erwachsenenalter diagnostiziert. Grund dafür ist, dass Blutungen seltener und kaum spontan auftreten. Auch die Ausbildung von Zielgelenken wiederholter Einblutungen unterbleibt in den meisten Fällen. Oft wird die Diagnose in Verbindung mit Traumata oder Operationen wie Zahnextraktionen gestellt, manchmal auch als Zufallsbefund. Diese Diagnoseverzögerungen können fatale Konsequenzen haben und zu exzessiven, manchmal lebensbedrohlichen Blutungen führen [22, 38].

Dies zeigt ein Fall eines 18jährigen Mannes aus dem Jahr 1964, bei dem eine verzögerte Diagnose nach einer traumatisch bedingten Gelenkblutung in einer Infektion resultierte und schließlich über eine Osteomyelitis sowie Sepsis zur Amputation des Beins am Hüftgelenk führte [39].

Dennoch können aber auch Patienten mit einer diagnostizierten leichten HA schwere Blutungen und die daraus resultierenden Komplikationen erfahren. Goodyear et al. berichteten von einem Mann, bei dem die Diagnose im Rahmen eines Familienscreenings im Alter von 69 Jahren gestellt wurde. Laut Krankengeschichte hatte er als Erwachsener drei schwere Unfälle mit massiven Blutverlusten und zahlreichen Bluttransfusionen. Bei Zahnextraktionen war es zu starken Blutungen gekommen. Auch berichtete der Patient von beträchtlichen Gelenkschwellungen und zunehmender Bewegungseinschränkung. Trotz der gehäuften Blutungen erfolgte nie eine genetische Diagnostik. Die körperliche Untersuchung zeigte signifikante muskuloskelettale Probleme, so dass er an einen orthopädischen Chirurgen überwiesen wurde. Wenige Monate nach der Diagnose erlitt er einen Unfall, stellte sich jedoch erst drei Wochen danach im Krankenhaus vor. Dort wurden eine beidseitige Iliopsoasblutung mit Abszessbildung, eine Diszitis sowie ein paravertebraler Abszess diagnostiziert. Die Behandlung erforderte einen viermonatigen Krankenhausaufenthalt [40].

Das Beispiel zeigt deutlich, dass verspätete Therapiemaßnahmen zu einer beachtlichen Morbidität führen können.



*Abb. 6: Klinisches Bild einer zu spät behandelten Gelenkblutung [7]*

Wie Walsh et al. feststellten, ist die leichte Form der HA mit einer reduzierten Lebensqualität bezüglich gesundheitlicher Aspekte verbunden, vor allem wenn Gelenkschäden vorhanden sind [41].

### 1.2.6 Diagnose

Die Diagnose einer Hämophilie verläuft in vier Schritten:

1. Erhebung der Eigen- und Familienanamnese: Blutungsneigungen, Medikamente
2. Die körperliche Untersuchung: Hinweise auf stattgefundene Blutungen, Indikation bildgebender Untersuchungen
3. Allgemeine Gerinnungsdiagnostik: Screeningteste, wie aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT), Quicktest und Thrombozytenanzahl
4. Spezielle Gerinnungsdiagnostik: Einzelfaktorenanalyse, Ausschluss eines vWS...[15]

Von den allgemeinen Gerinnungstests sollten dabei alle bis auf die aPTT normal sein, welche die Funktion des intrinsischen Systems erfasst. Für den Test wird das Kontaktsystem durch Inkubation des Testplasmas mit negativ geladenen Oberflächen, z.B. Kaolin, und PL aktiviert. Dann wird die Zeit vom Augenblick der Calciumzugabe bis zur fassbaren Fibrinbildung in Sekunden gemessen [37]; der Referenzbereich liegt je nach dem im Labor verwendeten Reagenz zwischen 30 bis 45 Sekunden [15]. Bei Hämophilen sollte der Wert bei FVIII Spiegeln < 50% über 45 Sekunden liegen, wobei hier große Schwankungen beschrieben sind.

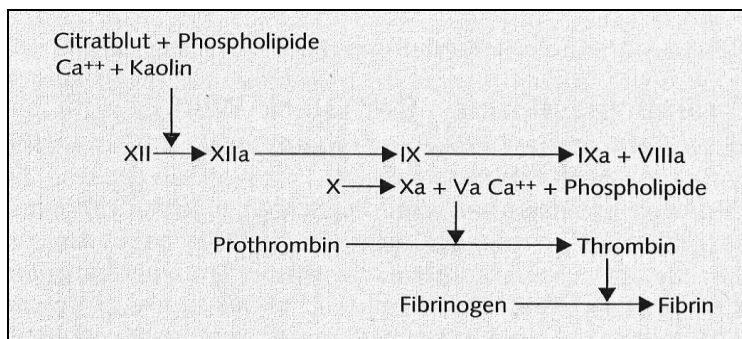


Abb. 7: Die Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit [11]

Zu beachten ist, dass bei Neugeborenen die aPTT verlängert und der Erwachsenenwert erst nach 6 Monaten erreicht ist [3]. Eine Verlängerung findet sich auch häufig bei Kindern, ausgelöst durch so genannte Lupusantikoagulanzen (nach einer Impfung oder Infektion auftretende unspezifische Antikörper). Denselben Effekt haben erworbene Antikörper gegen FVIII oder FIX sowie die Anwesenheit von Hirudin und Heparin [37].

Bei Patienten mit leichter HA hängt es von der Sensitivität des verwendeten aPTT Tests und von der Höhe des FVIII Spiegels ab, ob die aPTT pathologisch ist oder nicht. So resultieren Faktor Spiegel  $\geq 30\%$  bei manchen aPTT Reagenzien in normalen

Werten [38]. Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse gerade bei der leichten Form der Hämophilie sind schwierig zu erhalten, da kaum ein anderer Gerinnungstest so sehr von den Testbedingungen beeinflusst wird und eine Standardisierung der aPTT bislang nicht erreicht werden konnte [37].

Deshalb sollte immer, wenn der klinische Verdacht oder eine Anamnese für eine Hämophilie besteht, auch bei einer normalen aPTT, der FVIII bestimmt werden [22]. Der Spiegel beim Neugeborenen entspricht bereits dem Erwachsenennormwert. Allerdings ist auch das nicht problemlos, da drei verschiedene Messmethoden im Einsatz sind, nämlich der Einstufentest, der Zweistufentest und die chromogene Substratmethode. Gerade bei Patienten mit leichter HA treten Diskrepanzen bei einem Methodenvergleich auf. So wurde in einem Fall mittels Einstufentest eine FVIII Aktivität von 106% ermittelt, der Zweistufentest ergab 18% und der chromogene Substrattest 35% [42]. Diesen Unterschieden liegen spezifische Mutationen zugrunde [43-44]. Im Moment herrscht keine Einigkeit, welches Verfahren besser den Schweregrad der Hämophilie reflektiert, vor allem hinsichtlich der klinischen Blutungsneigung. So wiesen z.B. Patienten mit normalen FVIII Werten im Einstufentest und reduzierten FVIII Werten im Zweistufentest Blutungssymptome auf [45]. Neben diesen Variationen zwischen den Tests sowie zwischen den einzelnen Laboratorien, muss berücksichtigt werden, dass der FVIII zu den Akute-Phase-Proteinen gehört und der Spiegel als Antwort auf entzündliche Reize erhöht sein kann [46]. Auch die AB0-Blutgruppe spielt eine Rolle, da bei der Blutgruppe 0 niedrigere FVIII Spiegel die Regel sind, ohne dass Blutungen vermehrt auftreten. Daneben gibt es im Gegensatz zur schweren HA das Phänomen, dass es mit zunehmenden Alter zu einem Anstieg des FVIII Spiegels kommen kann [47]. Insgesamt kann es schwierig sein, eine klare Grenze zwischen normalen Individuen und denjenigen mit leichter HA zu ziehen.

### **Differentialdiagnosen**

Eine leichte HA muss von bestimmten Formen des vWS unterschieden werden, da dieses in der Regel auch durch reduzierte FVIII Spiegel charakterisiert ist. Zusätzlich finden sich eine verlängerte Blutungszeit und reduzierte vWF Spiegel im Plasma. Am schwierigsten ist es, das vWS Typ 2N von einer leichten HA abzugrenzen, da bei dieser Form die FVIII Bindungsfähigkeit des vWF defekt ist, Blutungszeit und die Konzentration des vWF im Plasma aber normal sind. Die Diagnose wird mittels der FVIII Bindungskapazität und Gentypisierung gestellt.

Auch muss untersucht werden, ob ein kombinierter Mangel an FV und FVIII vorliegt. Der Defekt liegt dann weder im FVIII- noch im FV-Gen, sondern in einem der Proteine, die für die posttranslationale Prozessierung und zelluläre Sekretion erforderlich sind [14].

Des Weiteren muss das Vorliegen von Lupusantikoagulanzen, erworbenen Hemmkörpern gegen FVIII und einer Lebererkrankung ausgeschlossen werden [37].

### **1.2.7 Therapie**

Zurzeit besteht keine Möglichkeit, die Hämophilie zu heilen.

#### **Allgemeine therapeutische Maßnahmen**

Die heutige Therapie beruht auf zwei Maßnahmen, nämlich der Substitutionstherapie, bei der der fehlende Gerinnungsfaktor durch ein Faktorkonzentrat ersetzt wird, und der Physiotherapie. Als Konzentrate werden solche verwendet, die aus Plasmaspenden gewonnen werden (pd = plasma-derived) oder gentechnisch hergestellt werden (r = rekombinant). Diese rekombinanten Konzentrate wurden entwickelt, um das Übertragungsrisiko von Virusinfektionen zu vermindern und die Verfügbarkeit von FVIII-Konzentraten zu erhöhen. Jedoch ist es in den letzten Jahren, dank der Entwicklung von Verfahren zur Virusinaktivierung, auch durch pd-Konzentrate nicht mehr zur Übertragung von Infektionen wie den Hepatitis A-, B-, C-Viren sowie von HIV (human immunodeficiency virus) gekommen [12, 37].

Das Faktorkonzentrat wird im Bolus langsam i.v. oder als Kurzzeitinfusion gegeben. Die Injektion wird im Bedarfsfall entsprechend der Halbwertszeit und der Schwere der Blutung wiederholt. Der Gehalt an Gerinnungsfaktor des Konzentrats wird in „Internationalen Einheiten“ (I.E. oder I.U.) angegeben. Dabei ist 1 Einheit definiert als diejenige Aktivität, die in 1ml Frischplasma, hergestellt aus einem großen Spenderpool, enthalten ist [37].

Als Ziele der Hämophilie-Therapie wurden festgehalten:

- Die Verhütung von Blutungen
- Die Behandlung von Blutungen, deren Komplikationen und Folgeschäden
- Die Erhaltung und / oder Wiederherstellung der Gelenkfunktion
- Die Integration der Hämophilen in ein normales soziales Leben

Die Behandlung sollte grundsätzlich in einem Hämophiliezentrum oder in Zusammenarbeit mit einem solchen erfolgen [8].

Für eine optimale Substitutionstherapie bei einer Blutung gilt, dass sie bei einer Blutung so früh wie möglich, in ausreichender Dosierung und über einen ausreichenden Zeitraum erfolgen sollte. Ziel ist es, die FVIII Aktivität vorübergehend auf einen hämostatisch wirksamen Spiegel zu erhöhen, der bei kleineren Verletzungen bei mindestens 35% und bei großen Verletzungen oder Operationen bei mindestens 50% liegen sollte [48]. Die Höhe der Dosis hängt dabei vom individuellen Faktorbedarf ab, also von der aktuellen Restaktivität, der Recovery (Wiederfindungsrate), der Halbwertszeit, dem Blutungsort, ggf. vom Blutverlust und der Größe der Wundfläche

[37]. Die Substitution kann entweder als Bedarfstherapie (direkt nach einer Blutung) oder als Dauerprophylaxe durchgeführt werden, je nach Schweregrad der Erkrankung und Alter (s. unten).

### **Therapie der schweren Hämophilie A**

Für Patienten mit schwerer HA wird die Prophylaxe von der WFH, der WHO sowie von der deutschen Bundesärztekammer als Behandlung der Wahl empfohlen [8, 49]. Die Prophylaxe besteht in einer 3x wöchentlichen Faktorgabe (Dosis: 20-40 IE/kg KG). Ziel ist es, die FVIII Restaktivität auf 1 bis 2% des Normwertes zu erhöhen und so die schwere in eine mittelschwere Form umzuwandeln [50]. Die Dauerbehandlung sollte zwischen dem 1. und 2. Lebensjahr beginnen, spätestens nach der ersten Gelenkblutung oder bei häufigen anderen Blutungen, um die Entwicklung einer hämophilen Arthropathie oder das Auftreten von Hirnblutungen zu vermeiden. Dabei kann die Substitutionstherapie als ärztlich kontrollierte Heimselbstbehandlung durchgeführt werden [15]. Gemäß dem Transfusionsgesetz besteht eine Chargendokumentationspflicht, d.h. es muss ein Substitutionstagebuch geführt werden [8]. Der Nutzen der Dauerprophylaxe wurde von Manco-Johnson et al. in einer prospektiven randomisierten Studie bewiesen [51].

### **Therapie der mittelschweren Hämophilie A**

Die Behandlung der mittelschweren HA erfolgt bei einigen Patienten als Bedarfstherapie, aber für viele Patienten ist auch hier die Dauerprophylaxe empfehlenswert [15].

### **Therapie der leichten Hämophilie A**

Während Patienten mit schwerer und mittelschwerer HA fast ausschließlich FVIII Konzentrate benötigen, können einige Patienten mit leichter HA, abgesehen von bedrohlichen Blutungen oder größeren operativen Eingriffen, mit DDAVP (1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin) behandelt werden [8]. Dabei handelt es sich nicht um eine Substitution des FVIII, sondern um die sofortige Freisetzung des FVIII und des vWF aus körpereigenen Speichern. Der Anstieg des FVIII ist umso stärker, je höher die individuelle Restaktivität ist und kann zwischen dem Zwei- bis Sechsfachen des Ausgangswertes betragen. Nach etwa acht Stunden sinkt die FVIII Aktivität wieder auf den Basisspiegel. Vor der DDAVP Gabe ist ein Test auf Ansprechbarkeit indiziert, da vor allem Kinder und Patienten ohne auffindbare Mutationen einen geringen oder keinen Faktoranstieg zeigen [22, 52]. Bei Kindern unter vier Jahren ist DDAVP generell kontraindiziert, da es aufgrund der Elektrolytverschiebungen zu Krampfanfällen und Blutdruckabfall kommen kann. Weitere unerwünschte Wirkungen sind: Auftreten von



Kopfschmerzen, eines Flushs und die nachlassende Wirksamkeit bei wiederholter Anwendung im Sinne einer Tachyphylaxie. Die großen Vorteile bestehen in der Vermeidung der Risiken der Plasmaderivate (Virusinfektionen, Hemmkörperbildung) und den niedrigeren Kosten [53]. Die Anwendung kann als Heimselbstbehandlung mittels Intranasalspray stattfinden. Ergänzend kann Tranexamsäure, ein Hemmstoff der Fibrinolyse, verwendet werden, der besonders gut bei Blutungen der Schleimhäute geeignet ist [12].

### **Ausblick**

Für die Zukunft ruhen die Hoffnungen auf einer Gentherapie, die eventuell eine nachhaltigere Korrektur des Gerinnungsdefekts ermöglicht, entweder durch Reparatur oder Ersatz des defekten Gens. Die ersten klinischen Versuche, bei Menschen ein gesundes Gen einzuschleusen, haben die Erwartungen noch nicht ganz erfüllt [7, 54-56].

### **1.2.8 Komplikationen**

Als unerwünschte kurzfristige Wirkungen der Substitutionstherapie können allergische Reaktionen, thromboembolische Komplikationen, Kopfschmerzen und Fieber auftreten [37]. Langfristige Auswirkungen hatten die durch Blutprodukte in den 1980ern ausgelösten viralen Epidemien. Zunächst spielten die Hepatitiden die größte Rolle. In der Vergangenheit waren 90 bis 100% der Hämophilen von einer Hepatitis betroffen. Danach erkrankten hämophile Patienten, durch die zunehmende Verbreitung der HIV-Viren, auch am Acquired Immune Deficiency Syndrom (AIDS). In Europa und den USA wiesen 50 bis 60% aller Patienten einen positiven HIV-Titer auf [1]. Patienten mit leichter HA waren von den Infektionen etwas weniger betroffen, wahrscheinlich wegen des geringeren Bedarfs an Blutprodukten [22].

Die heute am meisten gefürchtete und am schwersten wiegende Nebenwirkung besteht in der Ausbildung von Antikörpern (Hemmkörpern) gegen den zugeführten Faktor. Dadurch wird die Wirkung des Faktors neutralisiert, d.h. der applizierte Faktor ist unwirksam. Am häufigsten sind Menschen mit schwerer Hämophilie betroffen, da aufgrund der schweren Gendefekte kein eigener FVIII produziert werden kann und das Immunsystem den substituierten FVIII als körperfremdes Eiweiß wahrnimmt. 25 bis 30% der Patienten mit schwerer HA entwickeln solch einen Hemmkörper. Eine neue Studie zeigt, dass das Risiko einer Hemmkörperbildung durch den frühzeitigen Start mit einer 1x wöchentlichen und niedrig dosierten „Dauerprophylaxe“ bei gleichzeitiger Minimierung immunologischer Gefahrensignale, reduziert werden kann. Um eine Immuntoleranz zu induzieren, wurde unter anderem vermieden, das Faktorpräparat während einer Infektion oder am selben Tag wie eine Impfung zu verabreichen [57].

Da bei den leichten Formen etwas endogener FVIII synthetisiert wird, besteht eher eine gewisse Immuntoleranz gegen exogen zugeführten FVIII. Insgesamt beträgt die Prävalenz bei Patienten mit leichter und mittelschwerer HA für die Entwicklung von Hemmkörpern 3 bis 13%. Das Auftreten von Hemmkörpern bringt erhebliche klinische Probleme mit sich, indem der Phänotyp von leicht zu schwer wechselt und plötzlich Spontanblutungen auftreten [58]. Aufgrund einer Kreuzreaktivität mit endogenem FVIII kann dabei der Spiegel unter 1% sinken. Unterschiede zur schweren HA bestehen darin, dass Patienten mit leichter HA Hemmkörper meist erst später entwickeln, nämlich im 2. bis 3. Lebensjahrzehnt oder noch später und nicht in den ersten Wochen der Substitutionstherapie. Auch treten bei diesen Patienten häufiger hohe Hemmkörper-Konzentrationen auf [59-60].

Bei einem niedrigen Hemmkörper-Titer besteht die Möglichkeit, den Hemmkörper durch hochdosierte FVIII Gaben zu überspielen. Eventuell ist auch der Einsatz von DDAVP erfolgreich. Im Falle einer Blutung und Vorliegen eines hohen Hemmkörper-Titers kommen Mittel mit „factor VIII bypassing activity“ (FEIBA) wie aktivierte Prothrombinkomplex-Konzentrate oder rFVIIa (NovoSeven®) zum Einsatz [15]. Um die Hemmkörper zu eliminieren, gibt es verschiedene Optionen, ausgehend von einer so genannten Immuntoleranztherapie mit hochdosierter Gabe von FVIII, der Gabe von immunmodulatorischen Mitteln bis hin zu einer immunsuppressiven Therapie und Plasmapherese [22].

Als Risikofaktoren bei einer leichten HA kommen bestimmte genetische und Umwelteinflüsse in Frage. Dazu gehören eine positive Familienanamnese bezüglich Hemmkörpern und spezifische Missensemutationen in der A2 Domäne und C2 Domäne (C1/C2 Region). Normalerweise mit einem Hemmkörper Risiko von 5% behaftet, steigt bei diesen Mutationen das Risiko auf 19 bis 42%, da sie zu Konformitätsänderungen an Stellen von antigenen Epitopen auf der Moleküloberfläche führen. Ein weiteres Risiko birgt der intensive Gebrauch von FVIII Konzentraten im Rahmen von Operationen und Traumata, insbesondere wenn der Patient bis dahin nur selten mit FVIII behandelt wurde. Auch sollen kontinuierliche Infusionen risikoreicher sein als Bolusinjektionen [61-63].

### **1.2.9 Prognose**

1923 wurde zum ersten Mal über die Benutzung von Plasma als Substitutionstherapie berichtet, womit sich die Lebenserwartung von Patienten mit Hämophilie zu verbessern begann. Davor war die schwere Hämophilie durch eine hohe Sterblichkeitsrate aufgrund von Blutungen (hauptsächlich Hirnblutungen) und durch Invalidität bereits im frühen Teenageralter gekennzeichnet [64-66]. Mit Einführung des ersten Faktorpräparates 1966, der ärztlich kontrollierten Heimselbstbehandlung und der

Entwicklung von spezialisierten Hämophiliezentren sind die Lebenserwartung und Lebensqualität weiter signifikant gestiegen (siehe Tabelle 5) [66]. Auch in Deutschland hat sich die Altersstruktur hämophiler Patienten während der letzten Jahrzehnte erheblich verändert und nähert sich zunehmend an die Normalbevölkerung an [21]. In dem Zeitraum von 1983 bis 2006 wurde z.B. in Österreich bei Patienten mit leichter und mittelschwerer Hämophilie eine normale kumulierte Sterblichkeitsrate beobachtet, bei der schweren Form eine niedrigere [67].

Land	Zeitraum	Leichte Häm.	Schwere Häm.	Quelle
Schweden	1900 - 1942	29 Jahre	16, 5 Jahre	[68]
UK	1943 - 1957	50 Jahre	23, 2 Jahre	[22]
Schweden	1960 - 1980	72 Jahre	57 Jahre	[69]
Niederlande	1992 - 2001	75 Jahre	71 Jahre	[70]

*Tab. 5: Anstieg der Lebenserwartung (von HIV und HCV negativen Patienten)*

Es stellte sich heraus, dass der Schweregrad der Erkrankung ein unabhängiger Risikofaktor für die Sterblichkeit ist. In einer Multizenter Studie lag die Sterblichkeit bei Patienten mit schweren Gerinnungsstörungen zwei- bis dreifach höher als bei Patienten mit leichten Gerinnungsstörungen [71].

Die positive Entwicklung der Lebenserwartung wurde in den 1980ern dramatisch durch das Auftreten von Infektionen (HIV und HCV), die durch die Transfusion von Blutprodukten ausgelöst wurden, unterbrochen. In den letzten zwei Jahrzehnten machten die HIV und HCV Infektionen die Haupttodesursachen aus, auch bei Patienten mit leichter Hämophilie. Obwohl in Deutschland die Mortalität durch HIV/AIDS bei Patienten mit Hämophilie seit 1995 durch die Entwicklung potenter HIV-Medikamente immer weiter abnimmt, bleibt HIV ein wichtiges Problem, vor allem da eine HIV/HCV Koinfektion das Risiko einer schweren Lebererkrankung erhöht [21].

Schließt man die Individuen, welche HIV und HCV positiv waren, aus, dann hat die Lebenserwartung der Patienten mit leichter Hämophilie die der allgemeinen männlichen Bevölkerung erreicht [22].

## 2. Zielsetzung

Bei der leichten Hämophilie handelt es sich, wie unter anderem Schulman feststellte, um eine vernachlässigte Diagnose. Patienten mit der leichten Form würden generell nicht den gleichen Grad an medizinischer Aufmerksamkeit erhalten wie diejenigen mit der schweren Form, was bis zu einem gewissen Ausmaß gerechtfertigt sei [14]. Jedoch kann eine Diagnoseverzögerung trotz des leichten Gerinnungsdefekts erhebliche Komplikationen mit sich bringen, wie unter 1.2.5 beispielhaft dargestellt. In der Literatur finden sich immer wieder Berichte von massivem, zum Teil lebensbedrohlichem Blutverlust aufgrund von Traumata und Operationen, die zu hoher Morbidität führen können. Sogar bei bereits diagnostizierter Erkrankung kann dies vorkommen.

Des Weiteren wird die Diagnose, wie unter 1.2.6. dargelegt, erschwert durch die fragliche Aussagekraft der aPTT, vor allem zur Identifikation einer leichten Blutungsneigung. Ihr Einsatz zur präoperativen Gerinnungsdiagnostik ist mittlerweile umstritten [72-73].

Normalerweise wird die leichte Form der Hämophilie für eine harmlose Kondition gehalten, bei der es nur nach einem Trauma zu einer Blutung kommt und Gelenkblutungen kaum noch auftreten [1]. Dem widersprechen klinische Erfahrungen. Auch im Dr. von Haunerschen Kinderspital finden sich unter den Patienten mit leichter HA zwei Patienten, die eine Arthropathie entwickelt haben.

Ziel einer Hämophilietherapie ist es jedoch, die Gelenkfunktion zu erhalten, um chronische Schmerzen und Behinderung sowie einen eventuellen Gelenkersatz zu vermeiden.

Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, die Diagnose und Therapie für die Patientengruppe mit leichter Hämophilie zu verbessern. Damit könnte das Auftreten schwerer Komplikationen reduziert werden, vor allem da die Inzidenz der Erkrankung aufgrund der oben beschriebenen Diagnostikschwierigkeiten höher liegen dürfte als bis jetzt ermittelt.

Dazu wurden verschiedene Gesichtspunkte untersucht (siehe Tabelle 6) und die drei Schweregrade Leicht, Mittel, Schwer miteinander verglichen. Es interessierten dabei Alter und Grund für die Diagnostik, insbesondere ob schwere Blutungen durch Erfassung einer Familienanamnese und Blutungsanamnese hätten vermieden werden können. In diesem Zusammenhang wurde auch die diagnostische Aussagekraft der aPTT analysiert, sowie die Schwankungen der FVIII Aktivität. Zur Einschätzung der klinischen Manifestation der leichten Hämophilie wurden Art und Alter bei der ersten

Blutung sowie bei der ersten Substitution ausgewertet, ebenso ob und wann Gelenkblutungen aufgetreten waren. Des Weiteren wurden die Blutungen, deretwegen medizinische Hilfe aufgesucht wurde, erfasst sowie der Faktorverbrauch ermittelt. Untersucht wurde auch die Regelmäßigkeit von Routinekontrollen, um zu beurteilen, ob diese in ausreichendem Maß stattfanden. Die genetischen Mutationen wurden mit denen der HAMSTeRS Datenbank verglichen. Ebenso wurde das Vorliegen von prothrombotischen Risikofaktoren und Hemmkörpern erfasst sowie von zusätzlichen Erkrankungen, die eventuell das klinische Erscheinungsbild beeinflussen können.

<b>Diagnostik</b>
Alter bei Diagnose
Grund für Diagnostik
Familienanamnese
Blutungsanamnese
Genetische Hämophiliediagnostik
aPTT Werte
FVIII Aktivitäten
<b>Klinische Manifestation</b>
Art der ersten Blutung
Alter bei erster Blutung
Grund für erste Substitution
Alter bei erster Substitution
Gelenkblutungen
Entwicklung von Arthropathien
<b>Therapie</b>
Faktorverbrauch
Klinikbesuche
<b>Vorliegen von...</b>
... prothrombotischen Risikofaktoren
... Hemmkörpern
... zusätzlichen Erkrankungen

*Tab. 6: Untersuchte Gesichtspunkte*

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Studienform

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine retrospektive Studie, bei welcher Akten von 88 hämophilen Patienten des Dr. von Haunerschen Kinderspitals aus dem Zeitraum 1985 bis einschließlich 2009 ausgewertet wurden. Die Daten wurden in einer Computerdatei erfasst und anonymisiert. Ein Ethikantrag wurde aufgrund der retrospektiven Aktenauswertung und der Anonymisierung der Daten nicht gestellt. Eine Erlaubnis zur anonymen Auswertung der Daten lag von allen Patienten bzw. ihren Eltern vor. Es wurden keinerlei zusätzliche Untersuchungen durchgeführt und die Patienten keinerlei zusätzlichen Belastungen ausgesetzt.

#### 3.2 Patientenauswahl und Gruppenbildung

Um ein Patientenkollektiv zu erstellen, wurden diejenigen Patienten aus den Geburtsjahrgängen 1985 bis 2008 ausgewählt, bei welchen eine leichte und mittelschwere Form der HA diagnostiziert worden war.

Das Festlegen des Schweregrades der Erkrankung richtete sich nach der Mittelung der Werte für die FVIII Restaktivität aus den Laborberichten. Dabei wurden nur Werte derjenigen Blutabnahmen verwendet, die in ausreichendem zeitlichen Abstand zur letzten Substitution erfolgten (mehr als 10 Tage nach Faktorgabe). Als Patienten mit schwerer Hämophilie wurden solche gewertet, bei welchen sich die Faktor VIII Restaktivität nach einem gewissen Zeitraum konstant unter 1% befand bzw. nicht mehr nachweisbar war. Für die Gruppeneinteilung diente sowohl die Klassifizierung der Bundesärztekammer (vgl. Tabelle 7) als Vorlage als auch die Einteilung der ISTH (vgl. Tabelle 2), bei welcher nicht zwischen Subhämophilie und milder Hämophilie unterschieden wird. Die Auswertung erfolgte zur besseren Vergleichbarkeit mit internationalen Studien nach der Klassifizierung der ISTH, wobei für manche Untersuchungspunkte relevante Unterschiede in den Untergruppen „Mild“ und „Sub“ angegeben wurden.

Schweregrad	Restaktivität
Schwer	$\leq 1\%$
Mittelschwer	$> 1 \leq 5\%$
Mild	$> 5 \leq 15\%$
Sub	$> 15 - 50\%$

Tab. 7: Hämophilie-Klassifizierung der BÄK [8]

Schweregrad	Restaktivität
Severe (Schwer)	$< 1\%$
Moderate (Mittel)	1 - 5%
Mild (Leicht)	$> 5 - 40\%$

Tab. 2: Hämophilie-Klassifizierung der ISTH [13]

Den Kollektiven „Leicht“ und „Mittel“ sollten, als Vergleichsgruppe, Patienten mit der schweren Form gegenübergestellt werden. Zahlenmäßig sollte die Größe der Vergleichsgruppe „Schwer“ in etwa der Größe der Gruppen „Leicht“ und „Mittel“ zusammen entsprechen und aus denselben Geburtsjahrgängen gebildet werden. Eine weitere Anforderung war, dass in der Anamnese kein Hemmkörper aufgetreten sein sollte, um die Gruppen hinsichtlich des Faktorverbrauchs besser vergleichen zu können. Bei keinem der Patienten mit der leichten oder mittelschweren Form waren Hemmkörper zum Zeitpunkt der Auswertung nachweisbar.

### 3.3 Daten der Patientengruppen

Allgemein handelte es sich bei allen Gruppen um männliche Patienten.

Die demographischen Daten sind den Tabellen 8 und 9 zu entnehmen.

	<b>Leicht</b>	<b>Mittel</b>	<b>Schwer</b>
<b>FVIII Restaktivität</b>	<b>&gt; 5 ≤ 40%</b>	<b>1 - 5%</b>	<b>&lt; 1%</b>
Patientenanzahl (n)	n = 35	n = 7	n = 46
Range	1 - 24 Jahre	2 - 19 Jahre	1 - 24 Jahre
Mean	13,1 Jahre	10,4 Jahre	12,9 Jahre
Median	13 Jahre	10 Jahre	12 Jahre
Median der FVIII Restaktivität	16%	4%	<1%
Range der FVIII Restaktivität	5 – 33%	2 – 5%	<1%
Auswärts diagnostiziert	n = 2	n = 1	n = 15

*Tab. 8: Daten der Patientengruppen*

	<b>Sub</b>	<b>Mild</b>
<b>FVIII Restaktivität</b>	<b>&gt; 15 ≤ 50%</b>	<b>&gt; 5 ≤ 15%</b>
Patientenanzahl (n)	n = 16	n = 19
Range	1 - 22 Jahre	4 - 24 Jahre
Mean	11,8 Jahre	14, 2 Jahre
Median	11,5 Jahre	14 Jahre
Median der FVIII Restaktivität	25%	9%
Range der FVIII Restaktivität	17 – 33%	5 – 15%
Auswärts diagnostiziert	n = 0	n = 2

*Tab. 9: Daten der Gruppen „Sub“ und „Mild“*

### **3.4 Labormethoden**

#### **3.4.1 aPTT – Bestimmung**

Zur Messung der aPTT wurde von der Firma Dade Behring Marburg GmbH das aPTT Reagenz Pathrombin SL verwendet. Als Analysegerät diente der AMAX CS-190 der Amelung GmbH Lemgo. Der Normbereich wurde mit 30 bis 40 Sekunden angegeben.

#### **3.4.2 Lupusinhibitor (LI) – Diagnostik**

Zum Nachweis eines LI wurde von der Instrumentation Laboratory Company (Lexington USA), HemosIL LAC Screen verwendet, ein Phospholipid-armes DRVV-Reagenz. Als Analysator kam der ACL 9000 zum Einsatz. Bestätigt wurde der Nachweis mittels HemosIL LAC Confirm (einem Phospholipid-reichen DRVVT-Reagenz) und den ACL 9000. Das Ergebnis des LA-Nachweises wird als normalisierte LAC Ratio ausgedrückt. Bei einem Verhältnis  $> 2,0$  sind LA stark vorhanden, bei einer Ratio von 1,5 bis 2,0 sind LA gemäßigt, bei 1,2 bis 1,5 schwach vorhanden. Bei einem Verhältnis  $< 1,2$  wird der LA-Nachweis als negativ bewertet.

#### **3.4.3 Diagnostik des von-Willebrand-Syndroms**

Im Rahmen der vWS-Diagnostik wurden antigene Determinanten des FVIII (FVIII:AG), der Ristocetin-Kofaktor, die Kollagenbindungsaktivität und die FVIII Bindungskapazität bestimmt sowie eine Multimerenanalyse der vWF-Untergruppen durchgeführt. Die Aktivitätsbestimmung des FVIII:AG erfolgte mit Hilfe des Reagenz HemosIL von Willebrand Factor Antigen Kit und des ACL 9000 der Instrumentation Laboratory Company, Lexington USA. Der Normwert liegt zwischen 50 und 150%. Die Ristocetin-Kofaktor-Aktivität entspricht der vWF-Aktivität und wurde unter Verwendung des BC von Willebrand Reagenz der Firma Dade Behring Marburg GmbH bestimmt. Der Referenzbereich liegt zwischen 50 bis 150%.

Die Kollagenbindungsaktivität gibt die Fähigkeit des vWF wieder, an Kollagen und Thrombozyten zu binden. Die Untersuchung fand mittels einer ELISA-Platte der Firma Haemochrom Diagnostica GmbH aus Essen statt. Der Normbereich wird mit 60 bis 130% angegeben.

Die Bestimmung der FVIII Bindungskapazität erfolgte bei Prof. Dr. U. Budde in Hamburg. Der Referenzbereich beträgt 60 bis 170%.

Zur Differenzierung der unterschiedlichen Typen und Subtypen des vWS diente die Multimerenanalyse, welche ebenfalls bei Prof. Dr. U. Budde durchgeführt wurde.

#### **3.4.4 Hepatopathie**

Zum Ausschluss einer Hepatopathie wurden Bilirubin, Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), Gamma-Glutamyltranspeptidase



(Gamma-GT) und Alkalische Phosphatase (APH) routinemäßig im Rahmen der klinischen Chemie untersucht.

### **3.4.5 Ermittlung der Faktor VIII Restaktivität**

Für die quantitative Bestimmung des Einzelfaktors FVIII kam ein Einstufentest der Instrumentation Laboratory Company, Lexington USA, zum Einsatz. Als aPTT Reagenz wurde HemosIL APTT-SP (liquid), als Normalplasma HemosIL Normal Control und als Mangelplasma HemosIL Factor VIII deficient plasma verwendet. Die Analyse erfolgte durch den ACL 9000 der Instrumentation Laboratory Company, Lexington USA. Die Normaktivität des FVIII liegt bei Kindern > 1 Jahr bei 70 – 150%.

### **3.4.6 Genetische Diagnostik der Hämophilie A**

Die Analyse des FVIII-Gens zum Nachweis der für die Hämophilie verantwortlichen Mutation fand am Institut für Humangenetik der Universität Würzburg statt. Dabei wurde zunächst das Vorliegen einer Intron-22 oder Intron-1 Inversion mittels Long Range PCR und Southern Blot überprüft. Bei negativem Resultat wurde eine Komplettssequenzierung des Gens vorgenommen. Falls dabei keine Veränderung gefunden wurde, wurde eine Analyse auf mRNA Ebene durchgeführt.

### **3.4.7 Thrombophilie - Diagnostik**

Im Rahmen der Gerinnungsdiagnostik wurden auf genetischer Ebene der FV-Polymorphismus (G16916), der Prothrombin-Polymorphismus (G20210A) und der MTHFR-Polymorphismus (C677C) untersucht.

Des Weiteren wurden die Werte der Aktivitäten und Konzentrationen der Proteine C und S, der APC Ratio, der Antithrombinaktivität, des Lipoprotein(a), der Homozysteinkonzentration, des Cholesterin, der Triglyceride, des LDL-Cholesterin sowie des HDL-Cholesterin abgeklärt.

## **3.5 Auswertung**

### **3.5.1 Aktenstudium**

Die für diese Studie ausgewählten Patientenakten wurden hinsichtlich der folgenden Gesichtspunkte ausgewertet:

- Alter bei Diagnose und Grund für Diagnostik
- aPTT - Werte

Es wurden die ersten, höchsten und niedrigsten Werte erfasst. Dabei wurden nur Werte derjenigen Blutabnahmen verwendet, die in ausreichendem

- zeitlichen Abstand zur letzten Substitution erfolgten (mehr als 10 Tage nach letzter Faktorgabe).
- Faktor VIII Aktivität  
Es wurden die niedrigste und die höchste Aktivität erfasst. Dabei wurden nur Werte derjenigen Blutabnahmen verwendet, die in ausreichendem zeitlichen Abstand zur letzten Substitution erfolgten (mehr als 10 Tage nach letzter Faktorgabe).
  - Familiäre Belastung  
Dabei interessierte, ob die Mutter molekularbiologisch gesicherte oder anhand ihrer FVIII Aktivität wahrscheinliche Überträgerin der Mutation war und ob in der männlichen Verwandtschaft mütterlicherseits Fälle von Hämophilie aufgetreten waren (positive Familienanamnese).
  - Klinische Auffälligkeiten  
Untersucht wurde, ob anamnestisch über häufiges Nasenbluten, Hämatomeigung, verstärkte Blutungen nach Verletzungen, Blutungen beim Zahnwechsel oder bei zahnärztlichen Behandlungen sowie bei operativen Eingriffen berichtet worden war.
  - Ausschluss des vWS
  - Genetische Hämophiliediagnostik
  - Vorliegen anderer Erkrankungen
  - Erste Blutung (Alter, Art der Blutung)
  - Erste Substitution (Alter, Grund für Substitution)
  - Erste Gelenkblutung  
Es wurde als solche gewertet, wenn der klinische Nachweis durch die körperliche Untersuchung oder durch apparative Diagnostik (Röntgen, Sonographie, Arthroskopie oder Kernspintomographie) sicher erbracht wurde.
  - Entwicklung einer Hämophiliearthropathie  
Die Diagnose wurde röntgenologisch oder mittels Kernspintomographie gestellt. Die Röntgenuntersuchung fand in der Abteilung für Pädiatrische Radiologie im Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU statt. Die Kernspintomographie wurde im Institut für Radiologische Diagnostik am Klinikum Innenstadt in München gemacht.
  - Therapie  
Als Primärprophylaxe wurde diejenige Prophylaxe bezeichnet, welche nach höchstens einer Gelenkblutung und vor Erreichen des 2. Lebensjahres angefangen wurde. Zur Sekundärprophylaxe wurden alle Prophylaxen gerechnet, welche nicht die Kriterien einer Primärprophylaxe erfüllten [74].
  - Klinikbesuche

Es wurde ermittelt, wie groß der Anteil der Klinikbesuche im Rahmen von Operationen, aufgrund von Blutungsepisoden und an Routinevorstellungen an den gesamten Klinikbesuchen war. Für jede Blutungsepisode wurde, soweit möglich, die Ursache, die Blutungsart und der Zeitraum bis zum Klinikbesuch, dokumentiert.

➤ Faktorverbrauch

Bei 13 Patienten mit schwerer Hämophilie war die Chargendokumentation in den Akten lückenhaft. Im Schnitt fehlten 58,5 Tage (Range: 12 bis 167 Tage). Um diese Lücken zu füllen, wurde der Faktorverbrauch in einem entsprechenden Zeitraum vor und nach der Lücke berechnet, die Werte gemittelt und als Ersatz genommen. Die Lücken ergaben sich durch die unvollständig durchgeführte Dokumentation seitens der Patienten, welche aber vom Dr. von Haunerschen Kinderspital Faktor erhalten hatten.

Allgemein muss darauf hingewiesen werden, dass aus verschiedenen Gründen - z.B. Wechsel des Wohnortes und ein damit verbundener Klinikwechsel - nicht von jedem Patienten immer alle demographischen Daten erfassbar waren. Das erklärt die variierenden n-Zahlen der Graphiken.

### **3.5.2 Angewandte statistische Methoden**

Mithilfe des Tabellenkalkulationsprogramms Excel 2003 von Microsoft wurden die Daten der Patienten gesammelt, ausgewertet und rechnerisch in Graphiken umgesetzt. Die Boxplots zur Darstellung der aPTT sowie die Kaplan-Meier-Kurven zur Ereigniszeitanalyse wurden mit dem Statistikprogramm SPSS von der Firma IBM erstellt. Die Kaplan-Meier-Kurven wurden mittels Log-Rank-Test verglichen, wobei ein p-Wert  $\leq 0,05$  als signifikant gewertet wurde.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Diagnose

#### 4.1.1 Grund für Diagnostik

Abbildung 8 zeigt, in welchem Ausmaß eine Blutung, eine positive Familienanamnese und eine OP-Vorbereitung zur HA-Diagnose beitragen.

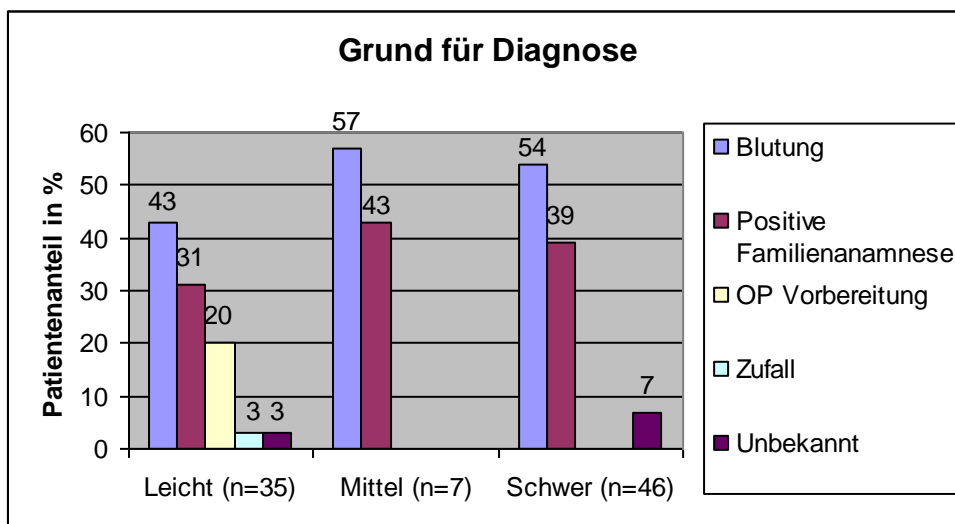


Abb. 8: Grund für Diagnose

Als positive Familienanamnese wurde gewertet, wenn mindestens ein männlicher Verwandter mütterlicherseits mit HA bekannt war und die Patienten zum Familienscreening vorgestellt wurden. OP-Vorbereitung bedeutet, dass die Patienten im Rahmen der präoperativen Gerinnungskontrolle durch eine verlängerte aPTT aufgefallen waren. Bei einem Patienten (3%, n=1/35) der Gruppe „Leicht“ wurde zufällig im Rahmen einer Jugenduntersuchung eine verlängerte aPTT festgestellt. Der Hauptgrund (Leicht 43%, Mittel 57%, Schwer 54%) für eine weiterführende Diagnostik war bei den Patienten aller drei Schweregradgruppen ein Blutungsereignis, gefolgt von der positiven Familienanamnese (Leicht 31%, Mittel 43%, Schwer 39%). Die OP-Vorbereitung spielte nur in der Gruppe „Leicht“ eine Rolle (20%). Bei Betrachtung der Untergruppe „Sub“ fiel auf, dass hier hauptsächlich eine positive Familienanamnese (38%) und eine OP-Vorbereitung (31%) zur Diagnose führten (Tabelle 10).

	Sub	Mild
Blutung	25% (n=4)	58% (n=11)
Positive Familienanamnese	38% (n=6)	26% (n=5)
OP Vorbereitung	31% (n=5)	11% (n=2)
Zufall / Unbekannt	6% (n=1)	5% (n=1)

Tab. 10: Diagnosegrund der Gruppe „Leicht“, aufgeteilt in „Sub“ und „Mild“

## 4.1.2 Diagnostik aufgrund einer Blutung

### Leichte HA

15 Patienten (43%,  $n=15/35$ ) mit leichter HA, bei denen es aufgrund einer Blutung zur Diagnose gekommen war, fielen hauptsächlich (39%,  $n=6/15$ ) durch eine operativ bedingte Nachblutung auf (vgl. Abbildung 9).

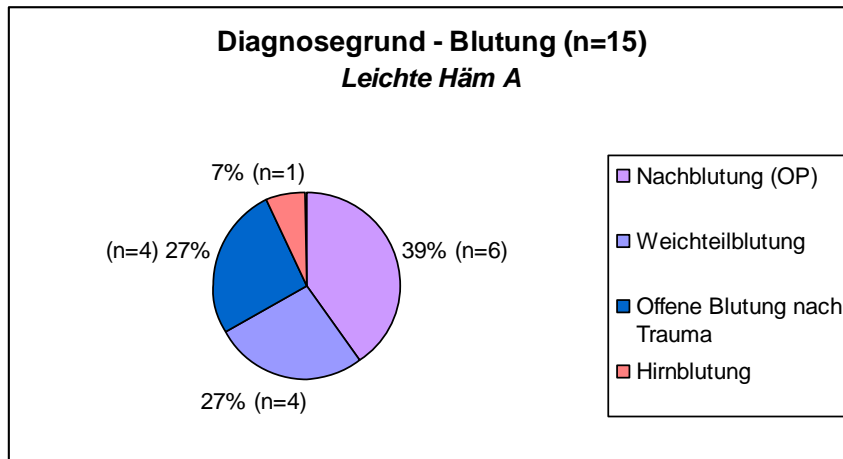


Abb. 9: Diagnosegrund Blutung – Gruppe „Leicht“

Von vier Patienten (25%,  $n=4/16$ ) mit Subhämophilie A, bei denen es wegen einer Blutung zur Diagnose gekommen war, fielen drei (75%,  $n=3/4$ ) durch eine Nachblutung auf. Ein Patient (25%,  $n=1/4$ ) hatte eine Hirnblutung.

Von 11 Patienten (58%,  $n=11/19$ ) mit milder HA, bei denen es wegen einer Blutung zur Diagnose gekommen war, wurden nur drei (27%,  $n=3/11$ ) wegen einer Nachblutung diagnostiziert.

### Mittel HA

Bei vier (57%) von sieben Patienten mit mittelschwerer HA war die Diagnose wegen einer Blutung gestellt worden. Dabei handelte es sich um vier verschiedene Blutungsarten (s. Abbildung 10). Ein Patient (25%,  $n=1/4$ ) fiel hier durch eine operative Nachblutung auf.

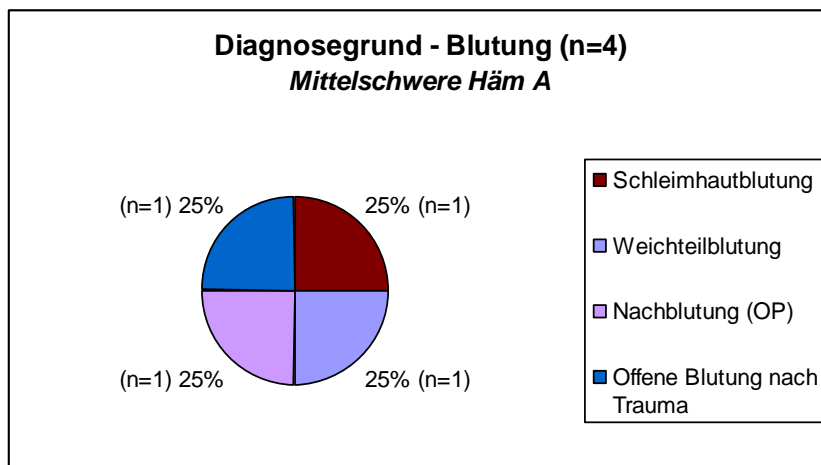


Abb. 10: Diagnosegrund Blutung – Gruppe „Mittel“

### Schwere HA

Mit 44% (n=11/25) war die Hauptblutungsursache, die zur Diagnose einer schweren HA führte, die Neigung zu Hämatomen. Am zweithäufigsten waren mit 20% (n=5/25) offene Blutungen nach einem Trauma. Starke Blutungen nach Operationen waren kein Diagnosegrund (Abbildung 11).

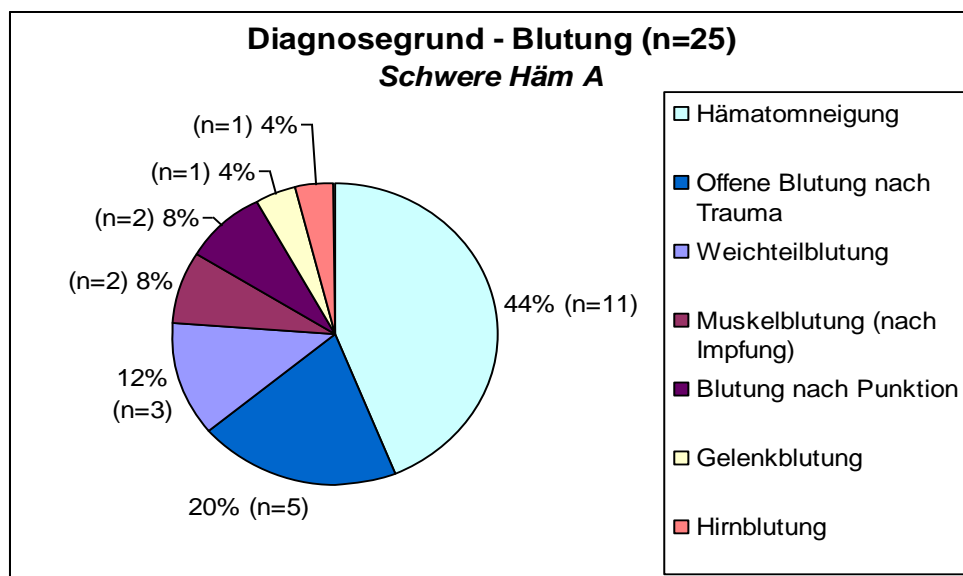


Abb. 11: Diagnosegrund Blutung - Gruppe „Schwer“

### Blutungsursache

Bei den Blutungen, die eine diagnostische Abklärung nötig machten, interessierte, ob diese mit einem auslösenden Ereignis in Verbindung standen oder nicht (Abbildung 12). Es stellte sich heraus, dass spontane Blutungen, also Blutungen ohne eruierebare Ursache, bei den Patienten mit schwerer HA über die Hälfte aller Blutungen (56%,

n=14/25) ausmachten. Dagegen waren es in der Gruppe „Mittel“ nur noch 25% (n=1/4) und in der Gruppe „Leicht“ lediglich 16% (n=1/15).

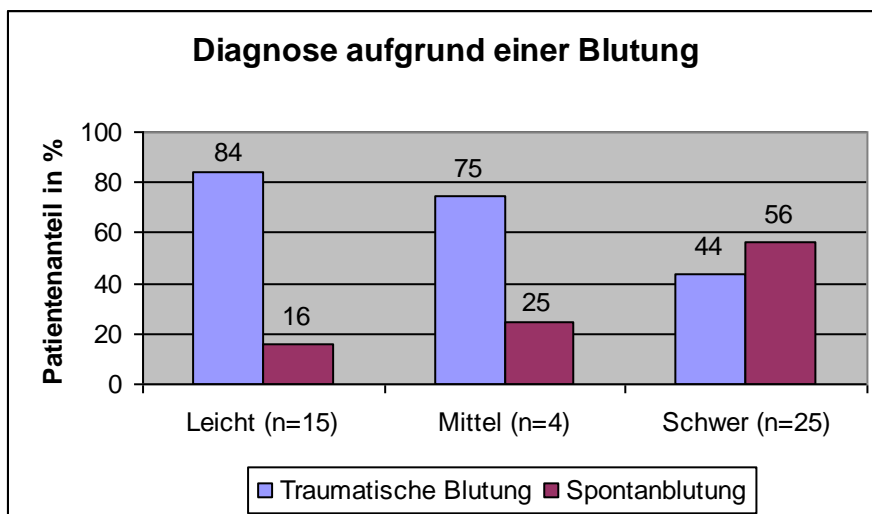


Abb. 12: Diagnosegrund Blutung - Traumatisch oder Spontan

#### 4.1.3 Diagnostik aufgrund einer Nachblutung (OP)

Da operativ bedingte Blutungen bei der Gruppe „Leicht“ mit 39% (n=6/15) die Hauptblutungsursache ausmachten und bei der Gruppe „Mittel“ noch 25% (n=1/4), wurde untersucht, ob eine positive Familienanamnese und klinische Auffälligkeiten zu einer früheren Diagnose hätten führen können. Zu den klinischen Auffälligkeiten wurden häufiges Nasenbluten, Neigung zu Hämatomen und starke Blutungen nach Verletzungen gezählt. Ob präoperativ eine Gerinnungskontrolle erfolgte, war nicht bekannt. Nachfolgend sind die Angaben der Anamnese und der erste im Dr. von Hainerschen Kinderspital bestimmte aPTT Wert in Tabelle 11 dargestellt.

Patienten mit Nachblutungen (n = 7)							
Patienten	1	2	3	4	5	6	7
Familienanamnese	negativ	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ
Klin. Auffälligkeiten	ja	nein	nein	ja	nein	nein	ja
Erste aPTT	45 sec.	49 sec.	33 sec.	42 sec.	50 sec.	45 sec.	67 sec.
FVIII Aktivität	30%	27%	7%	8%	20%	17%	4%

Tab. 11: Anamneseangaben der Patienten mit Nachblutung

Insgesamt hätten 71,4% (n=5) der sieben Patienten mit Nachblutungen aufgrund der Anamnese vor den Operationen als Hämophile identifiziert werden können.

#### 4.1.4 Rolle der Familienanamnese bei der Diagnose

Die Abbildung 13 zeigt die Diskrepanz zwischen dem Anteil der Patienten, bei denen eine familiär bekannte HA vorlag, und dem Anteil derer, die sich deswegen zum

Familienanamnese vorstellten. Der Unterschied war bei der Gruppe „Leicht“ mit 18% (n=6/17) am größten und bei der Gruppe „Schwer“ mit 9% (n=4/22) am niedrigsten. Diese Daten legen nahe, dass Patienten mit leichter HA bzw. deren Familien schlechter über die Vererbung der Krankheit aufgeklärt sind oder der Diagnose keine Beachtung schenken.

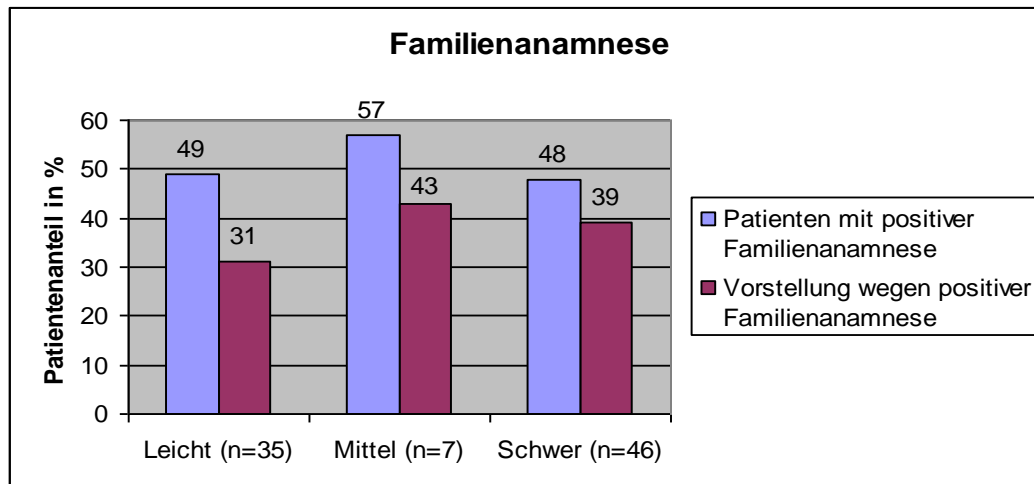


Abb. 13: Rolle der Familienanamnese bei der Diagnose

#### 4.1.5 Alter bei Diagnose

Der Median des Alters, in dem die HA diagnostiziert wurde, lag bei Patienten mit schwerer HA bei sieben Lebensmonaten (Range: 1 – 29 Monate), bei denen mit mittelschwerer HA bei 12 Lebensmonaten (Range: 1 – 18 Monate) und bei Patienten mit leichter HA bei 44 Lebensmonaten (Range: 1 – 181 Monate).

Unterteilt man die Gruppe „Leicht“ in die Untergruppen „Sub“ und „Mild“, erhält man für die Patienten mit Subhämophilie A einen Median von 53 Lebensmonaten und für die Patienten mit milder HA einen von 21 Lebensmonaten.

Die Kaplan-Meier-Kurven in Abbildung 14 zeigen für die drei Schweregrade der HA die Zeit, die bis zur Diagnosestellung vergeht. Betrachtet man alle drei Schweregrade, so sind sie signifikant unterschiedlich ( $p < 0.001$ ). Zwischen den Gruppen „Mittel“ und „Leicht“ besteht ebenfalls ein statistisch signifikanter Unterschied ( $p = 0.03$ ). Die Gruppen „Mittel“ und „Schwer“ sind nicht zu unterscheiden ( $p = 0.08$ ).



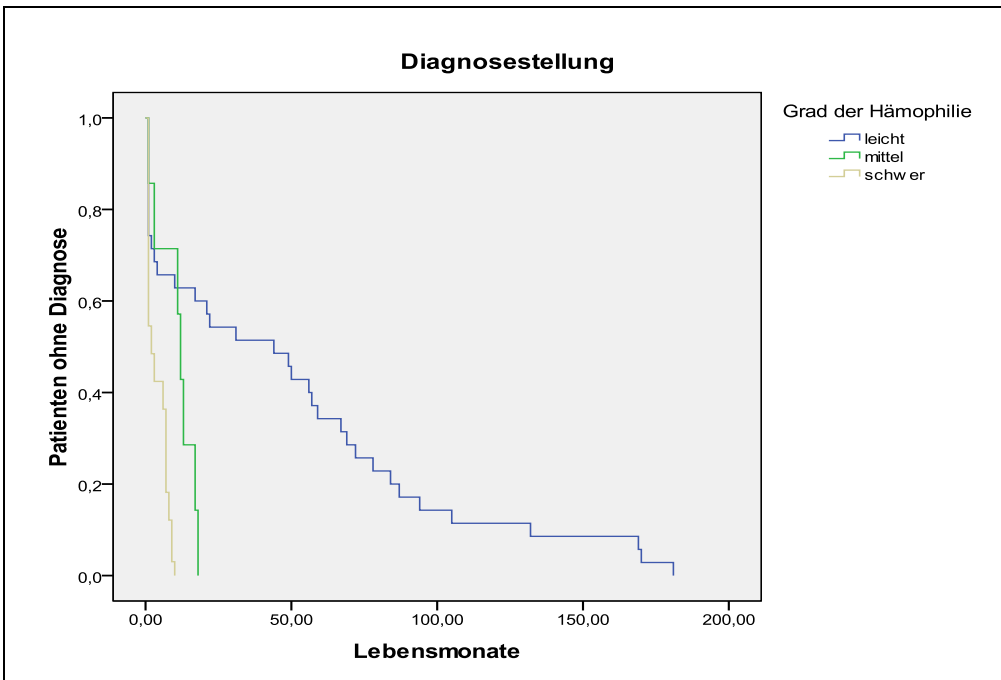


Abb. 14: Kaplan-Meier-Kurve: Diagnosestellung

Wie in Abbildung 15 zu sehen, führte aber insgesamt eine positive Familienanamnese bei allen drei Schweregraden zu einer früheren Diagnose als eine Blutung. Besonders bei Patienten mit leichter HA ist der Unterschied mit einer Differenz von 22,5 Monaten deutlich. Auffällig ist, dass bei Patienten der Gruppe „Mittel“ später die Diagnostik aufgrund einer Familienanamnese veranlasst wurde, als dies bei den anderen beiden Gruppen der Fall war.

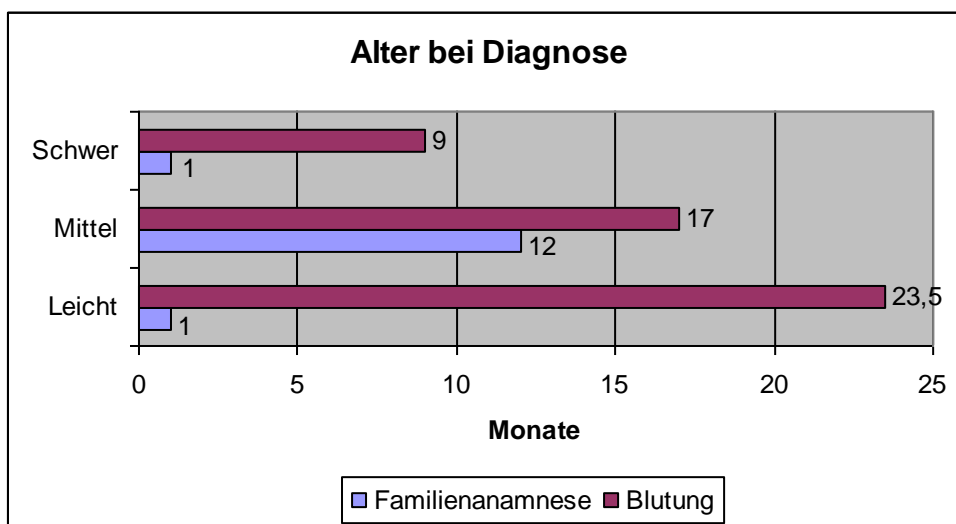


Abb. 15: Alter bei Diagnose in Abhängigkeit vom Vorstellungsgrund

#### 4.1.6 Operationen

23 Patienten (66%, n=23/35) mit leichter HA hatten insgesamt 46 Operationen. Ein Patient (3%, n=1/35) dieser Gruppe wurde wegen einer Hämophiliearthropathie operiert.

Bei den sieben Patienten mit mittelschwerer HA kamen auf vier operierte Patienten (57%) insgesamt sieben Operationen, wovon ebenfalls ein Patient (14%) wegen eines Gelenkschadens operiert wurde.

Bei der Gruppe „Schwer“ lag die Anzahl operierter Patienten bei 24 (52%, n=24/46) und die Anzahl der Operationen bei 70. Neun Patienten mit schwerer HA (20%, n=9/46) hatten 13 operative Eingriffe aufgrund einer Hämophiliearthropathie.

Bei den Gelenkoperationen machten Synovektomien (n=10/15) den Großteil aus. Seltener wurden Arthrolysen (n=2/15), Chondroplastiken (n=1/15), Radiusköpfchenresektionen (n=1/15) und Knorpeltransplantationen (n=1/15) durchgeführt.

Die nachfolgende Abbildung 16 zeigt, dass nur knapp über die Hälfte (54%, n=25/46) aller Operationen der Gruppe „Leicht“ unter Faktorsubstitution erfolgte. Auch bei der Gruppe „Mittel“ wurden nicht alle Operationen mit Faktorgabe (71%, n=5/7) durchgeführt. Allerdings resultierten hier diese Eingriffe in Nachblutungen, wohingegen bei der Gruppe „Leicht“ 52% (n=11/21) der Operationen ohne Faktorsubstitution sogar komplikationslos abliefen. Daraus kann man schließen, dass nicht jeder Mensch mit leichter HA bei operativen Eingriffen blutet, was die Dunkelziffer für leichte HA beeinflusst.

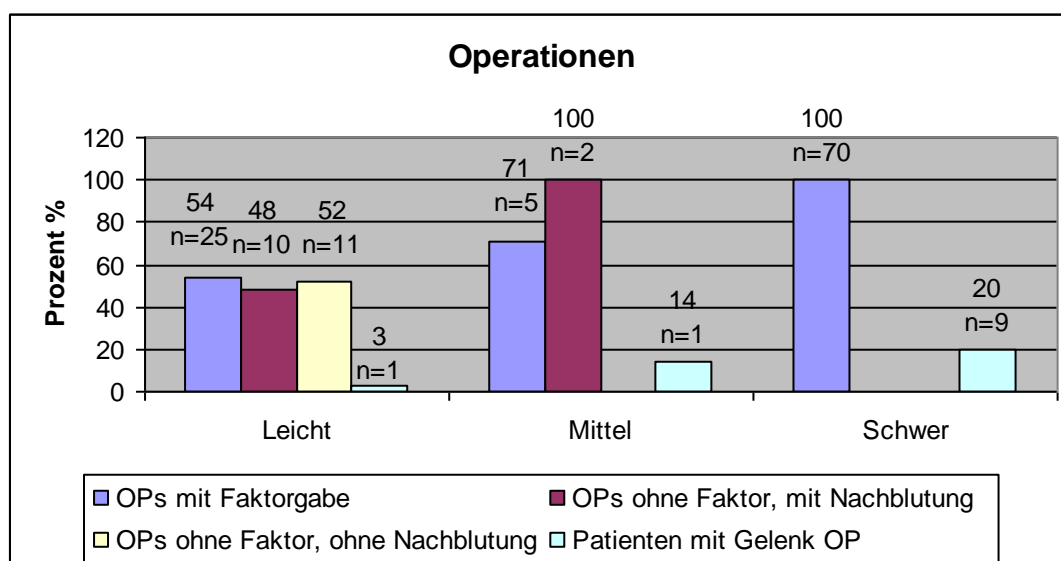


Abb. 16: Operationen

## 4.2 Aussagekraft der aPTT

Der Normbereich des vom Dr. von Haunerschen Kinderspitals verwendeten aPTT-Reagenz lag bei 30 bis 40 Sekunden. Es konnte nicht in Erfahrung gebracht werden, welche Reagenzien außerhalb der Klinik verwendet wurden, entsprechend nicht deren Normbereiche. Alle aPTT Werte, auch diejenigen, die nicht im Dr. von Haunerschen Kinderspital gemessen wurden, wurden auf den Referenzbereich von 30 bis 40 Sekunden bezogen, da dies in etwa dem angegebenen Referenzbereich der meisten Reagenzien entspricht.

Es wurden die Werte der ersten gemessenen aPTT pro Kind ausgewertet, sowie jeweils die niedrigsten und höchsten aPTT Werte (vgl. Abbildung 17). Insgesamt befanden sich in der Gruppe „Leicht“ 57% (n=20/35) der Patienten mit mindestens einem Wert im Normbereich, von der Gruppe „Mittel“ und „Schwer“ lag kein Patient mit einem der aPTT-Werte in der Norm. Unterscheidet man im Weiteren die Gruppen „Sub“ und „Mild“, waren 88% (n=14/16) der Patienten mit Subhämophilie A mit mindestens einem Wert in der Norm und 32% (n=6/19) der Patienten mit milder HA.

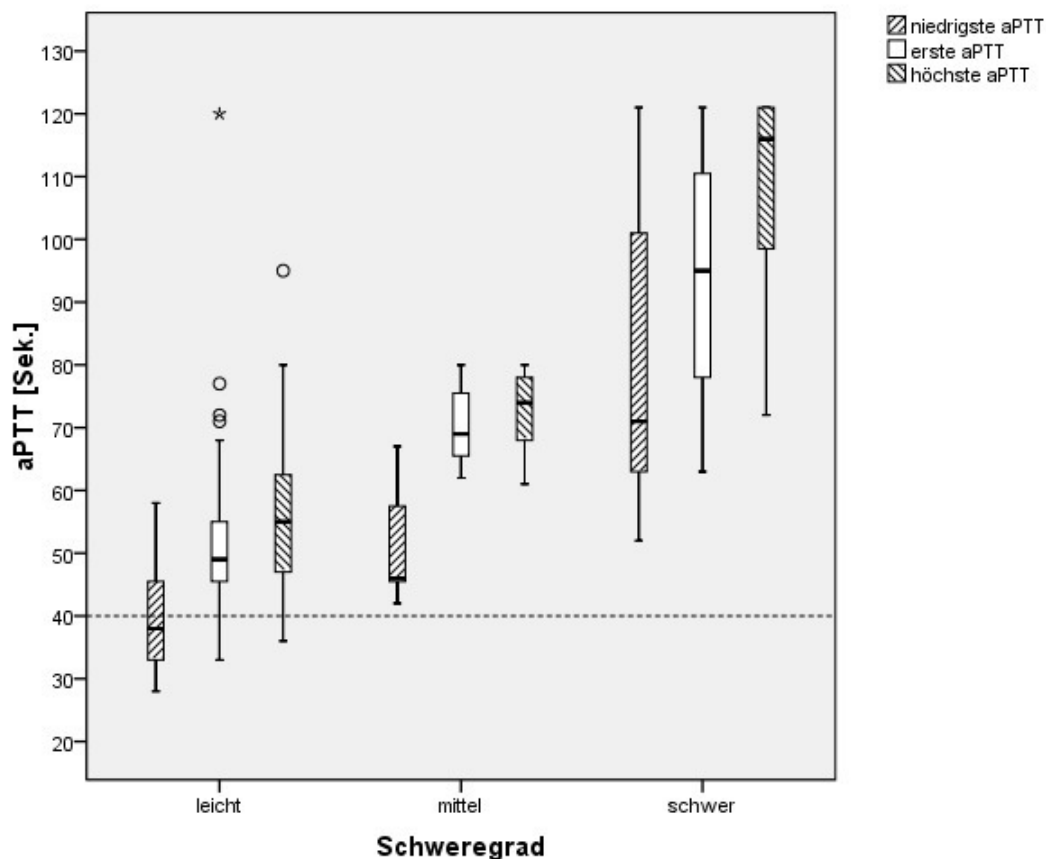


Abb. 17: Erste, niedrigste und höchste aPTT (Sekunden)

○ milder Ausreißer

\* extremer Ausreißer

### **Erste aPTT**

Ein Patient (3%, n=1/35) der Gruppe „Leicht“ lag mit der ersten erfassten aPTT im Normbereich. Der Median des ersten aPTT Wertes betrug für die Gruppe „Leicht“ 49 Sekunden (Range: 33 - 68 Sekunden). Vier Patienten (11%, n=4/35) lagen im Median von 49 Sekunden.

Bei der Gruppe „Mittel“ lag der Median bei 69 Sekunden (Range: 62 – 80 Sekunden). Ein Patient (14%, n=1/7) lag im Median.

Der Median der Patienten mit schwerer HA betrug 95 Sekunden (Range: 63 - 120 Sekunden). Kein Patient lag im Median.

### **Niedrigste aPTT**

Der Median der Gruppe „Leicht“ lag bei 38 Sekunden (Range: 28 – 58 Sekunden). Zwei Patienten (6%, n=2/35) lagen im Median.

Der Median der Gruppe „Mittel“ betrug 46 Sekunden (Range: 42 – 67 Sekunden). Zwei Patienten (29%, n=2/7) lagen im Median.

Bei der Gruppe „Schwer“ lag der Median bei 71 Sekunden (Range: 52 – 120 Sekunden). Kein Patient lag im Median.

### **Höchste aPTT**

Mit einem Wert von 36 Sekunden lag ein Patient (3%, n=1/35) mit leichter HA mit seinem höchsten gemessenen aPTT Wert noch in der Norm. Der maximale Wert der Gruppe „Leicht“ lag bei 80 Sekunden, der Median bei 55 Sekunden. Ein Patient (3%, n=1/35) lag im Median.

Der Median der Gruppe „Mittel“ war 74 Sekunden (Range: 61 – 80 Sekunden). Ein Patient (14%, n=1/7) lag im Median.

Bei der Gruppe „Schwer“ lag der Median bei 116 Sekunden (Range: 72 – 120 Sekunden). Zwei Patienten (4%, n=2/46) lagen im Median.

Die mediane Differenz zwischen dem niedrigsten und höchsten aPTT Wert betrug in der Gruppe „Leicht“ 15 Sekunden, in der Gruppe „Mittel“ 18 Sekunden und in der Gruppe „Schwer“ 23,5 Sekunden.

## **4.3 Faktor VIII Aktivität im Verlauf**

Im Dr. von Haunerschen Kinderspital wird zur Ermittlung der FVIII Aktivität der Einstufentest benutzt. Es lagen keine Informationen darüber vor, welches Testverfahren auswärts verwendet wurde. Auszugehen ist von der Verwendung des Einstufentests, weil dieser am gebräuchlichsten ist.

Die nachfolgende Abbildung 18 zeigt die Schwankungsbreite der gemessenen FVIII Aktivitäten. Graphisch dargestellt sind die niedrigsten und höchsten FVIII Aktivitäten pro Gruppe, jeweils als Medianwerte.

In der Gruppe „Leicht“ lagen sechs Patienten (17%, n=6/35) mit ihrer höchsten FVIII Aktivität über 40%. Die mediane Differenz zwischen der niedrigsten und höchsten FVIII Aktivität betrug in dieser Gruppe 12%. 18 Patienten mit leichter HA (63%, n=18/35) wiesen Differenzen zwischen den bei ihnen gemessenen höchsten und niedrigsten FVIII Aktivitäten auf, die kleiner oder gleich der medianen Differenz kamen.

In der Gruppe „Mittel“ lag die mediane Differenz bei 6%. Fünf Patienten (71%, n=5/7) wiesen Differenzen auf, die kleiner oder gleich der medianen Differenz kamen.

In der Gruppe „Schwer“ lag die mediane Differenz bei 3%. 16 Patienten (70%, n=16/23) wiesen Differenzen auf, die kleiner oder gleich der medianen Differenz kamen.

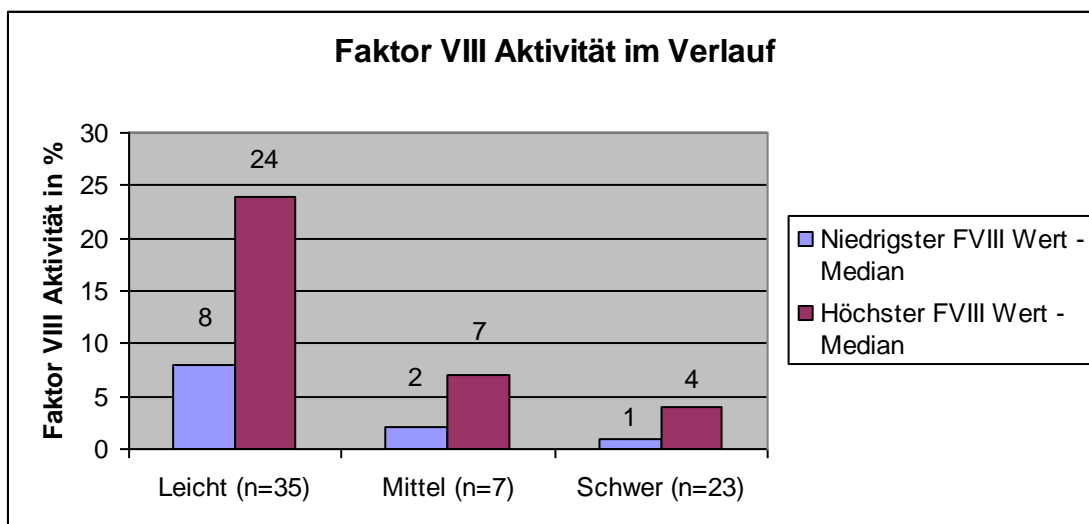


Abb. 18: FVIII Aktivität (%) im Verlauf

#### 4.4 Genetische Diagnostik

In der Tabelle 12 sind die Ergebnisse der FVIII DNA Analyse aufgelistet. Bei zwei (7%) von 29 genetisch untersuchten Patienten mit leichter HA (83%, n=29/35) konnten keine Veränderungen gefunden werden; in der Gruppe „Schwer“ bei drei (7%) von 44 untersuchten Patienten (96%, n=44/46).

Punktmutationen machten 100% der gefundenen Mutationen sowohl bei den Patienten mit leichter als auch mittelschwerer HA aus. Bei der Gruppe „Schwer“ bildete die Intron 22 Inversion mit 49% (n=20/41) den Großteil, gefolgt von Punktmutationen mit 34%

(n=14/41). Kleine Insertionen führten in 7% (n=3/41) der Fälle zur schweren HA, kleine und große Deletionen zu je 5% (n=2/41).

<b>FVIII - Mutationen</b>				
	Leicht (n=29)	Mittel (n=6)	Schwer (n=44)	Hemmkörperisiko
<b>Punktmutationen</b>	<b>27</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	
Missense	25	6	8	5%
Stop			3	20-35%
Spleißstelle	2		3	<5%
<b>Insertionen</b>			<b>3</b>	
Klein			3	5%
<b>Deletionen</b>			<b>4</b>	
Klein			2	35%
Groß			2	35%
<b>Intron 22 Inversion</b>			<b>20</b>	35%
<b>Keine Mutation</b>	<b>2</b>		<b>3</b>	

Tab. 12: FVIII - Mutationen

### Vergleich mit HAMSTeRS

14 (52%) der 27 Punktmutationen der Gruppe „Leicht“ sind bereits in der HA-Datenbank HAMSTeRS vorbeschrieben (Tabelle 13, 14 und 15). Von den 27 Punktmutationen betrafen 26% (n=7) die Domäne A3, 20% (n=5) jeweils die Domänen C2 und A1, 12% (n=3) die Domänen C1 sowie A2 und 8% (n=2) die Region A2/B.

In der Gruppe „Mittel“ waren vier (67%) der sechs Punktmutationen in der Datenbank aufgeführt. Die sechs Punktmutationen der Patienten mit mittelschwerer HA betrafen folgende Stellen: die Domäne A1, die Region A1/A2, die Domäne A2, die Region A2/B und zweimal die Domäne A3.

Von den 14 Punktmutationen aus dem Patientenkollektiv „Schwer“ waren neun (64%) in der Datenbank aufgeführt. 36% (n=5) der Punktmutationen waren jeweils an der Stelle A2/B und in der Domäne A1 gefunden worden, 14% (n=2) in der Domäne A2 und 7% (n=1) jeweils in den Domänen C2 und C1.

Im untersuchten Krankengut wiesen sowohl ein Patient mit leichter HA als auch ein Patient mit schwerer HA die Mutation Arg(CGT)2150His(CAT) auf. Diese war auch in der Datenbank veröffentlicht worden, ebenfalls mit dieser Schwankungsbreite im klinischen Erscheinungsbild und in den FVIII – Werten.

Der Vergleich mit HAMSTeRS (Stand 6. August 2007, abgerufen im September 2010) ergab, dass 13 neue Punktmutationen gefunden worden waren, die zur leichten HA führten, zwei, die zur mittelschweren HA und fünf, die zur schweren HA führten.

Gruppe	Exon	Domäne	Mutationsart	Nukleotid-Austausch	Aminosäure-Austausch	In HAMSTeRS vorbeschrieben	Anzahl von Einträgen	Schweregrad
Leicht	2	A1	Spleißstelle	c.265+12A>G		nein	0	
Leicht	4	A1	Missense	c.599A>G	p.Glu181Gly	nein	0	
Leicht	4	A1	Missense	c.599A>G	p.Glu181Gly	nein	0	
Leicht	4	A1	Missense	c.599A>G	p.Glu181Gly	nein	0	
Leicht	7	A1	Missense	c.839G>A	p.Gly261Asp	nein	0	
Leicht	11	A2	Missense	c.1636C>T	p.Arg527Trp	ja	23	Leicht/Mittel
Leicht	11	A2	Missense	?	p.Arg527Trp	ja	23	Leicht/Mittel
Leicht	13	A2	Missense	c.2026A>G	p.Thr657Ala	nein	0	
Leicht	14	A2/B	Missense	c.2149C>T	p.Arg698Trp	ja	16	Leicht/Mittel
Leicht	14	A2/B	Missense	c.2167G>A	p.Ala704Thr	ja	9	Leicht/Mittel
Leicht	16	A3	Missense	c.5528C>T	p.Ala1824Val.	nein	0	
Leicht	16	A3	Missense	Val(GTA)1773Leu(CTA)		nein	0	
Leicht	16	A3	Missense	c.5547T>G	p.Phe1830Leu	ja	1	Leicht
Leicht	16	A3	Missense	c.5534C>A	p.Thr.1826Asn	nein	0	
Leicht	Intron 16		Spleißstelle	c.5586+5G>A hemizygot		nein	0	
Leicht	18	A3	Missense	Tyr(TAT)1979Ser(TCT)		ja	1	Leicht
Leicht	18	A3	Missense	c.5879G>A	p.Arg1941Gln	nein	0	
Leicht	18	A3	Missense	Tyr(TAT)1979Ser(TCT)		ja	1	Leicht
Leicht	22	C1	Missense	c.6317A>G	p.Gln2087Arg	ja	1	Leicht
Leicht	23	C1	Missense	c.6443A>G	p.Asn2129Ser	ja	3	Leicht/Mittel
Leicht	23	C1	Missense	Arg(CGT)2150His(CAT)		ja	61	Leicht/Mittel/Schwer
Leicht	25	C2	Missense	c.6860G>T	p.Gly2268Val	nein	0	
Leicht	26	C2	Missense	c.6956C>T	p.Pro2300Leu	ja	19	Leicht/Mittel/Schwer
Leicht	26	C2	Missense	Pro(CCG)2300Leu(CTG)		ja	19	Leicht/Mittel/Schwer
Leicht	26	C2	Missense	c.6968G>A	p.Arg2304His	ja	2	Leicht
Leicht	26	C2	Missense	c.6977G>A	p.Arg2307Gln	ja	19	Leicht/Mittel/Schwer
Leicht	?		Missense	c.655G>A	p.Ala200Thr	nein	0	

Tab. 13: Vergleich der Mutationen der Gruppe „Leicht“ mit HAMSTeRS (Stand von September 2010)



Gruppe	Exon	Domäne	Mutationsart	Nukleotid-Austausch	Aminosäure-Austausch	In HAMSTeRS vorbeschrieben	Anzahl von Einträgen	Schweregrad
Mittel	1	A1	Missense	c.74A>C	p.Tyr6Ser	nein	0	
Mittel	8	A1/A2	Missense	c.1247C>T	p.Pro397Leu	nein	0	
Mittel	9	A2	Missense	lie(ATT)419Phe(TTT)		ja	1	Konduktorin
Mittel	14	A2/B	Missense	Arg(CGC)1689Cys(TGC)		ja	24	Leicht/Mittel/Schwer
Mittel	16	A3	Missense	Arg(CGT)1781His(CAT)		ja	19	Leicht/Mittel/Schwer
Mittel	18	A3	Missense	Asn(AAT)1922Ser(AGT)		ja	2	Mittel/Schwer

Tab. 14: Vergleich der Mutationen der Gruppe „Mittel“ mit HAMSTeRS (Stand von September 2010)

Gruppe	Exon	Domäne	Mutationsart	DNA-Veränderung	Aminosäure-Austausch	In HAMSTeRS vorbeschrieben	Anzahl von Einträgen	Schweregrad
Schwer	1	A1	Stopmutation	Arg(CGA)-5Stop(TGA)		ja	9	Mittel/Schwer
Schwer	2	A1	Spleißstelle	IVS 2+1 (G>A)		ja	?	?
Schwer	4	A1	Missense	Cys(TGC)153Arg(CGC)		ja	1	Schwer
Schwer	5	A1	Spleißstelle	5(G/+1Gnach G/+1A)		nein		
Schwer	7	A1	Missense	c.902G>A	p.Arg282His	ja	11	Mittel/Schwer
Schwer	9	A2	Missense	Gly(GGA)450Arg(AGA)		nein	0	
Schwer	14	A2/B	Missense	Gly(GGC)1460Asp(GAC)		nein	0	
Schwer	9	A2	Missense	c.1332A>T	p.Lys425Asn	ja	2	Schwer
Schwer	14	A2/B	Insertion	c.4825-4826insA		ja	?	?
Schwer	14	A2/B	Missense	Leu(CTG)706Arg(CGG)		nein	0	
Schwer	14	A2/B	Kl. Deletion	3629-3636delA		nein		
Schwer	14	A2/B	Missense	Arg(CGA)795Stop(TGA)		ja	17	Schwer
Schwer	14	A2/B	Stopmutation	Gln(CAA)1317stop(TAA)		ja	1	Schwer
Schwer	14	A2/B	Gr.Deletion			ja	?	?
Schwer	14	A2/B	Insertion	Ins A codons 1588-1590		nein		
Schwer	14	A2/B	Stopmutation	c.4657A>T		nein	0	
Schwer	14	A2/B	Kl. Deletion	c.3561delT		nein		
Schwer	14	A2/B	Insertion	c.4825-4826insA		ja	?	?
Schwer	23	C1	Missense	Arg(CGT)2150His(CAT)		ja	61	Leicht/Mittel/Schwer
Schwer	25	C2	Stopmutation	2270 CAG->TAG(STOP)		ja	1	Schwer
Schwer	26	C2	Gr. Deletion			ja	?	?

Tab. 15: Vergleich der Mutationen der Gruppe „Schwer“ mit HAMSTeRS (Stand von September 2010)

## Familiäre Belastung

Die nachfolgende Abbildung 19 zeigt, wie viele Mütter hinsichtlich der DNA Veränderungen im FVIII Gen untersucht wurden (Konduktorinnendiagnostik). Zudem ist der Prozentsatz der Patienten mit einer positiven Familienanamnese angegeben.

In der Gruppe „Leicht“ war bei 34% der Patienten (n=12/35) weder bekannt, ob die Mutter Konduktorin war noch hatten sie eine positive Anamnese. Unter ihnen könnten sich Patienten mit einer spontanen Veränderung im Erbgut befinden (= Neumutation).

Bei einem Patienten (14%, n=1/7) der Gruppe „Mittel“ konnte die genetische Veränderung bei der Mutter nicht nachgewiesen werden. Damit war eine genetische Neumutation gesichert. Ein Patient hatte keine männlichen Verwandten mit einer HA, und es lag keine genetische Untersuchung der Mutter vor.

Bei 11% der Patienten (n=5/46) mit schwerer HA war weder die Mutter molekularbiologisch untersucht worden noch hatten sie eine positive Familienanamnese. Ein Patient wies eine molekularbiologisch gesicherte Neumutation auf.

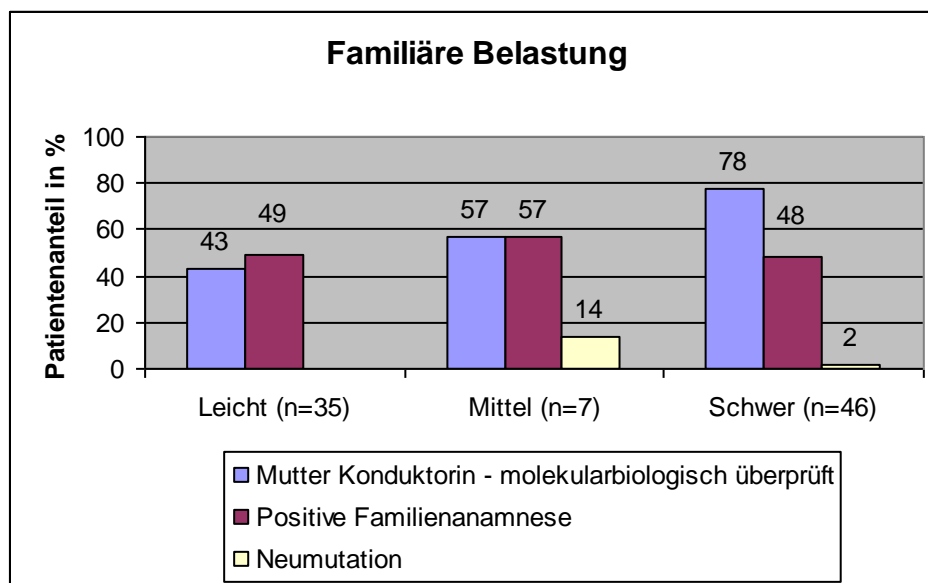


Abb. 19: Familiäre Belastung

## 4.5 Klinische Manifestation der leichten Hämophilie A

### 4.5.1 Erste Blutung

#### Alter bei erster Blutung

Wie aus Abbildung 20 ersichtlich, fand die erste Blutung bei Patienten mit leichter HA später statt als bei Patienten mit mittelschwerer oder schwerer HA. Der Median lag in der Gruppe „Leicht“ bei 23,5 Monaten (Range: 1 – 181 Monaten). Vier Patienten (11,4%, n=4/35) hatten überhaupt noch keine Blutung erlitten. Drei davon gehörten zur Untergruppe „Sub“, bei welcher der Median für die erste Blutung mit 47 Monaten hinter dem der Untergruppe „Mild“ mit 21 Monaten lag.

Bei den Gruppen „Schwer“ und „Mittel“ war die zeitliche Spanne wesentlich kleiner. In der Gruppe „Mittel“ betrug sie 3 – 29 Monate und bei der Gruppe „Schwer“ 1 – 54 Monate.

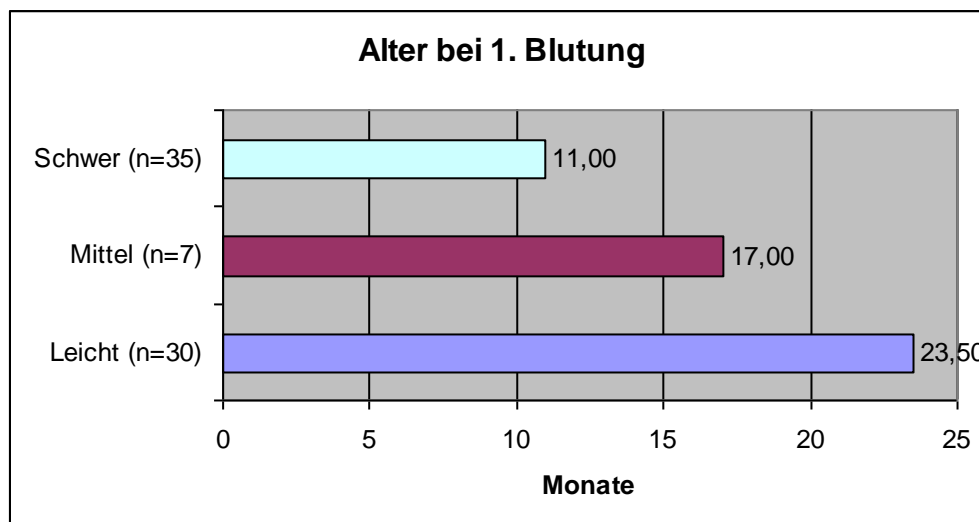


Abb. 20: Alter bei 1. Blutung

Die Abbildung 21 zeigt die Kaplan-Meier-Kurven, welche den Zeitpunkt des Auftretens der ersten Blutung darstellen. Diese und alle folgenden Kaplan-Meier-Kurven sind zensiert, was bedeutet, dass bei einem oder mehreren Patienten das Ereignis bis zum Ende des jeweiligen Beobachtungszeitraums nicht eingetreten war. Das Zeichen I steht jeweils für einen zensierten Patienten.

Für die Interpretation der Abbildung 21 bedeutet das, dass vier Patienten mit leichter Hämophilie bis zum Ende des jeweiligen Beobachtungszeitraums keine Blutung erlitten haben. Der Log-Rank-Test ergab, dass sich die drei Schweregrade statistisch signifikant unterscheiden ( $p < 0.001$ ). Die Gruppen „Mittel“ und „Leicht“ unterscheiden sich ebenfalls signifikant ( $p = 0.05$ ). Die Gruppen „Mittel“ und „Schwer“ unterscheiden sich dagegen nicht.

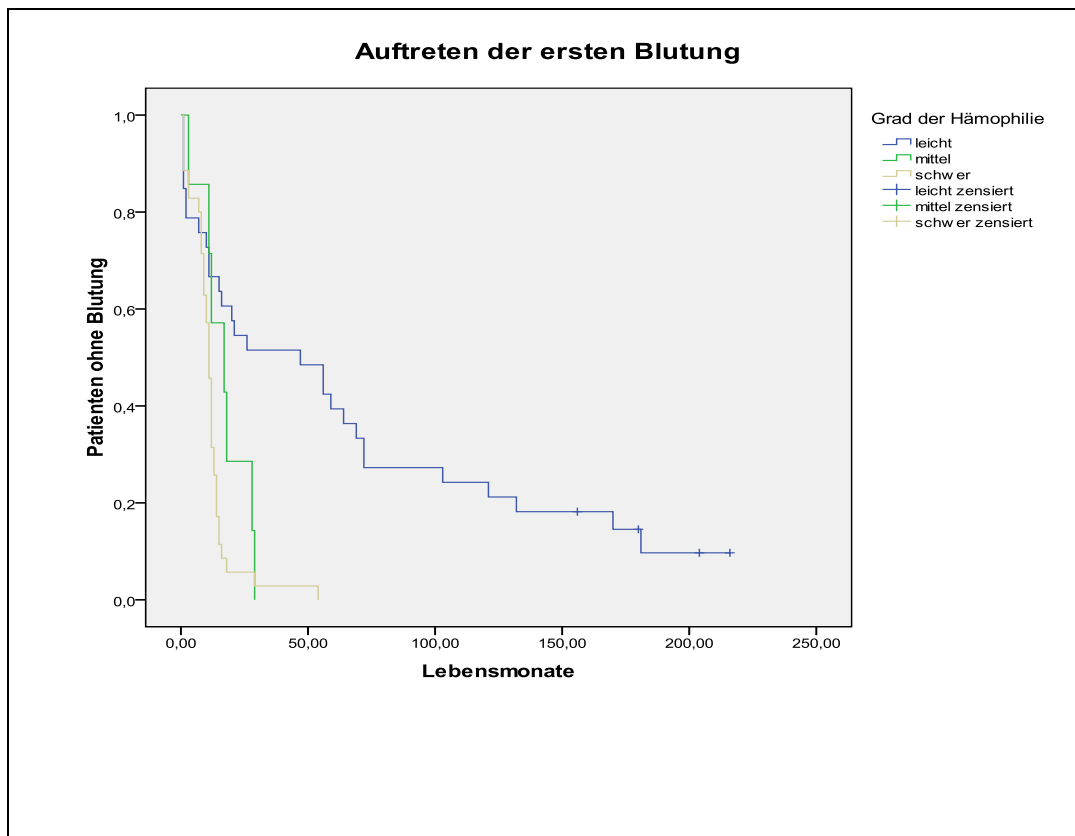


Abb. 21: Kaplan-Meier-Kurve: Auftreten der ersten Blutung

### Art der ersten Blutung

Die häufigste Blutungsart war bei allen drei Patientenkollektiven die offene Blutung nach einem Trauma (Abbildung 22). Zu einer offenen Blutung nach einem Trauma wurden Platzwunden, Zungen- und Lippenbisse sowie Lippenbändcheneinrisse gerechnet. Bei der Gruppe „Leicht“ machte die offene Blutung nach einem Trauma 31% (n=11/35) aus, bei der Gruppe „Mittel“ 44% (n=3/7) und bei der Gruppe „Schwer“ 22% (n=10/46).

Mit 26% (n=9/35) stellte die operativ bedingte Nachblutung bei den Patienten mit leichter HA die zweithäufigste Blutungsart dar. In der Untergruppe „Sub“ bildete sie mit 38% (n=5/13) sogar den Hauptanteil, gefolgt von der offenen Blutung nach einem Trauma mit 23% (n=3/13). Bei der Gruppe „Mild“ jedoch überwog mit 44% (n=8/18) die offene Blutung nach einem Trauma die Nachblutung, welche 22% (n=4/18) ausmachte. Im Gegensatz zur Gruppe „Mittel“ waren als erste Blutungsursache bei der Gruppe „Leicht“ auch eine Gelenkblutung (3%, n=1/35) und zwei Hirnblutungen (6%, n=2/35) aufgetreten.

Sieben Patienten (15%, n=7/46) mit schwerer HA wiesen als erste Blutung eine Gelenkblutung auf, ein Patient (2%, n=1/46) eine Hirnblutung.

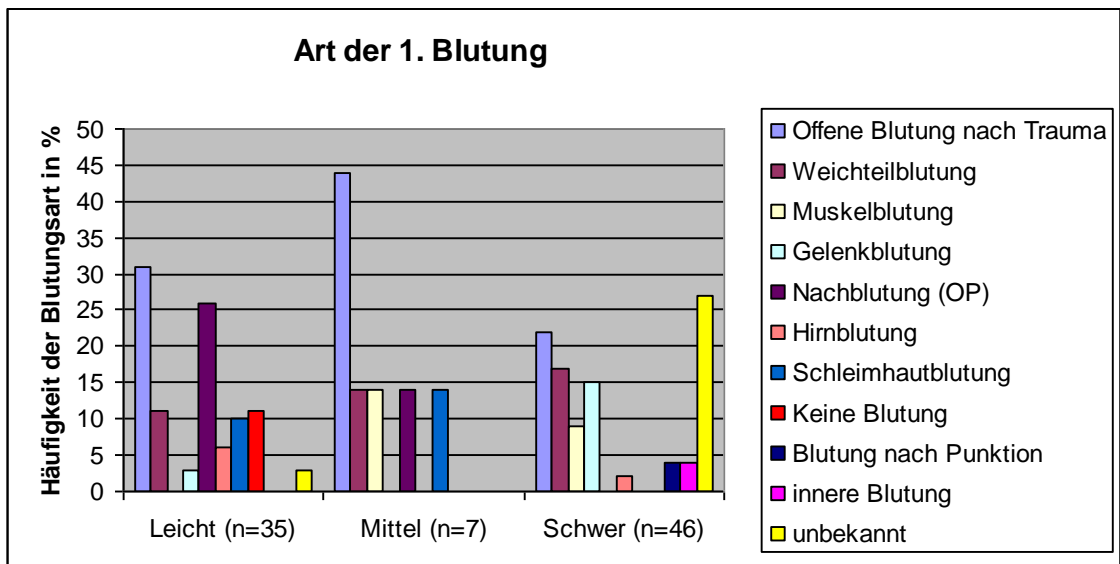


Abb. 22: Art der 1. Blutung

#### 4.5.2 Erste Substitution

##### Alter bei erster Substitution

Der Median für das Alter bei der ersten Faktorgabe lag in der Gruppe „Leicht“ bei 50 Monaten (Abbildung 23). Für die Untergruppe „Sub“ betrug er 55 Monate und für die Untergruppe „Mild“ 47 Monate.

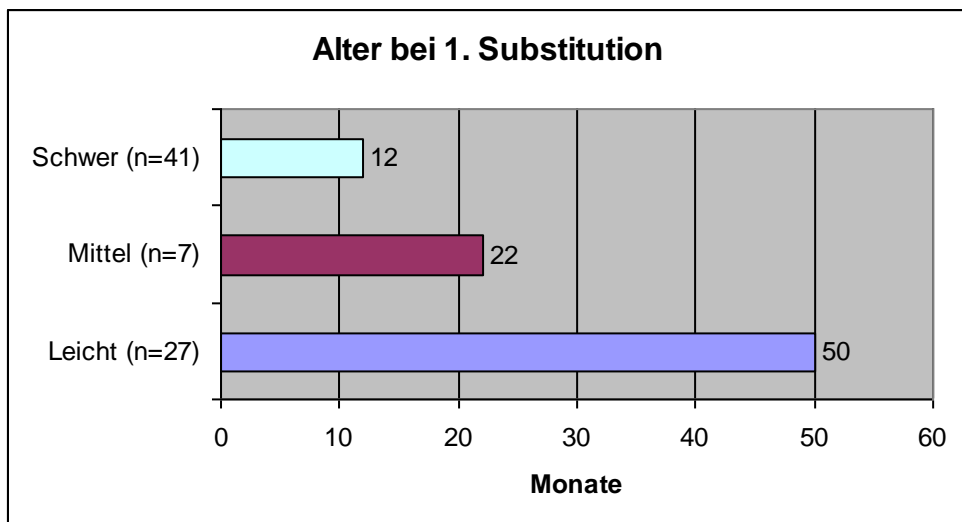


Abb. 23: Alter bei 1. Substitution

Die Kaplan-Meier-Kurven aus Abbildung 24 zeigen die Wahrscheinlichkeit, in welchem Lebensalter die erste Faktorgabe nötig war.

Die drei Schweregrade unterscheiden sich dabei statistisch signifikant ( $p < 0.001$ ). Die Gruppen „Mittel“ und „Leicht“ unterscheiden sich ebenfalls signifikant ( $p < 0.001$ ). Zwischen den Gruppen „Mittel“ und „Schwer“ gibt es keinen signifikanten Unterschied.

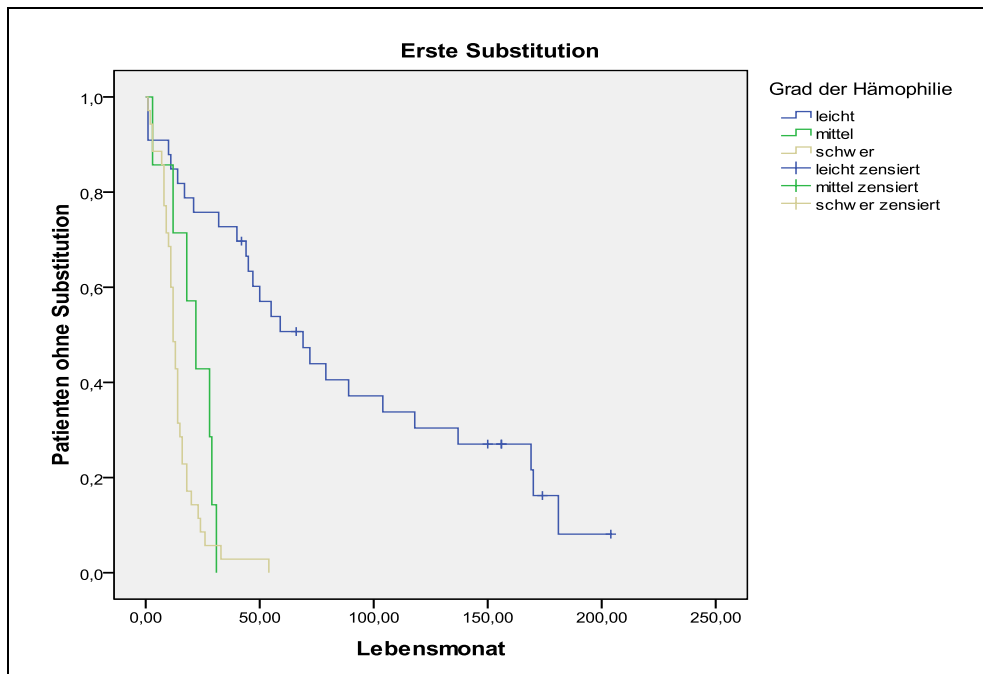


Abb. 24: Kaplan-Meier-Kurve: Erste Substitution

### Zeitraum zwischen Diagnose und erster Substitution

Zwischen der Diagnose der Erkrankung und der ersten Gabe eines Faktorkonzentrats verging bei den Patienten mit leichter HA und bei den Patienten mit mittelschwerer HA im Median fünf Monate (Range: 0 – 116 Monate bzw. Range: 0 – 28 Monate). Bei Patienten mit schwerer HA lag der Median bei vier Monaten (Range: 0 – 53 Monate).

### Ursache für die erste Substitution

60% ( $n=21/35$ ) der Patienten mit leichter HA sind wegen einer Blutung zum ersten Mal substituiert worden, 17% ( $n=6/35$ ) wegen einer Operation, 20% ( $n=7/35$ ) bislang nie und bei 3% ( $n=1/35$ ) war die Ursache nicht bekannt.

Teilt man die Patienten auf die beiden Untergruppen „Sub“ und „Mild“ auf, ergaben sich folgende Prozentwerte:

- Sub: 44% ( $n=7/16$ ) Blutung, 31% ( $n=5/16$ ) keine Substitution, 25% ( $n=4/16$ ) OP
- Mild: 78% ( $n=14/18$ ) Blutung, 11% ( $n=2/18$ ) keine Substitution, 11% ( $n=2/18$ ) OP

In der Gruppe „Mittel“ erhielten alle Patienten (n=7/7, 100%) aufgrund einer Blutung zum ersten Mal FVIII und in der Gruppe „Schwer“ 70% (n=32/46). Von 24% (n=11/46) konnte nicht in Erfahrung gebracht werden, aus welchem Grund die erste Substitution erfolgte. 4% (n=2/46) erhielten im Rahmen einer Operation das erste Mal Faktor VIII, 2% (n=1/46) als Beginn der Prophylaxe (vgl. Abbildung 25).

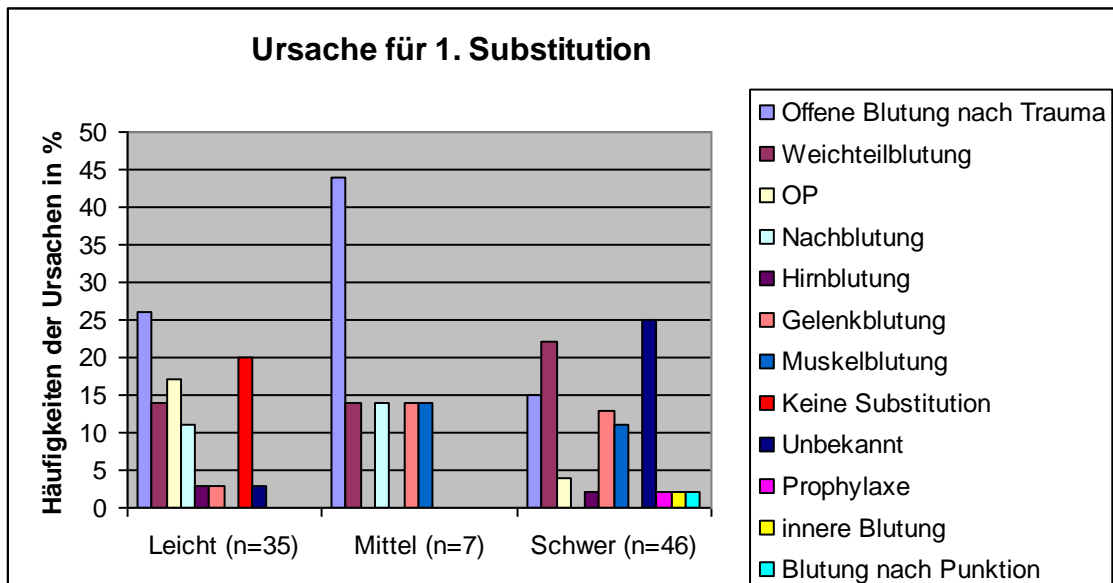


Abb. 25: Ursachen für 1. Substitution

#### 4.5.3 Gelenkblutung

Betrachtet man, wie viele Patienten eine Einblutung in ein Gelenk erfahren haben, so sieht man anhand der Abbildung 26 deutlich die Korrelation mit dem Schweregrad der HA.

Bei der Gruppe „Leicht“ hatten 40% (n=14/35) der Patienten eine Gelenkblutung erlitten, in der Untergruppe „Sub“ waren es 25% (n=4/16) und in der Untergruppe „Mild“ mit 53% (n=10/19) knapp über die Hälfte.

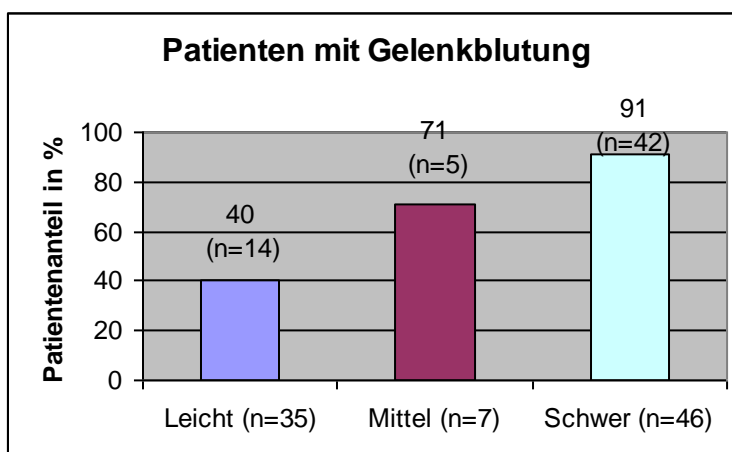


Abb. 26: Patienten mit Gelenkblutung

### Alter bei erster Gelenkblutung

Die erste Gelenkblutung bei Patienten mit leichter HA ereignete sich 45 Monate später als bei Patienten mit mittelschwerer HA und 65 Monate später als bei Patienten mit schwerer HA, wenn diese noch keine Prophylaxe bekamen (s. Abbildung 27). Der zeitliche Abstand hingegen zu den Patienten mit schwerer HA, bei denen die Prophylaxe vor der ersten Gelenkblutung eingeführt worden war, war mit 48 Monaten deutlich geringer. Dieses Ergebnis legt den Schluss nahe, dass durch eine frühe Einführung der Prophylaxe das Auftreten der ersten Gelenkblutungen bei Patienten mit schwerer HA hinausgezögert werden kann. Von den 11 (n=11/46) Patienten der Gruppe „Schwer“, welche eine Prophylaxe vor der ersten Gelenkblutung bekamen, hatten zum Untersuchungszeitpunkt acht (73%, n=8/11) eine Gelenkblutung erfahren, drei (27%, n=3/11) noch keine.

Der Median für das Alter, in welchem die erste Gelenkblutung auftrat, lag in der Gruppe „Leicht“ bei 85 Monaten (Range: 50 – 189 Monate), in der Gruppe „Mittel“ bei 40 Monaten (Range: 31 – 88 Monate), in der Gruppe „Schwer - Prophylaxe“ bei 37 Monaten (Range: 28 – 96 Monate) und in der Gruppe „Schwer – Bedarfstherapie“ bei 20 Monaten (Range: 8 – 123 Monate).

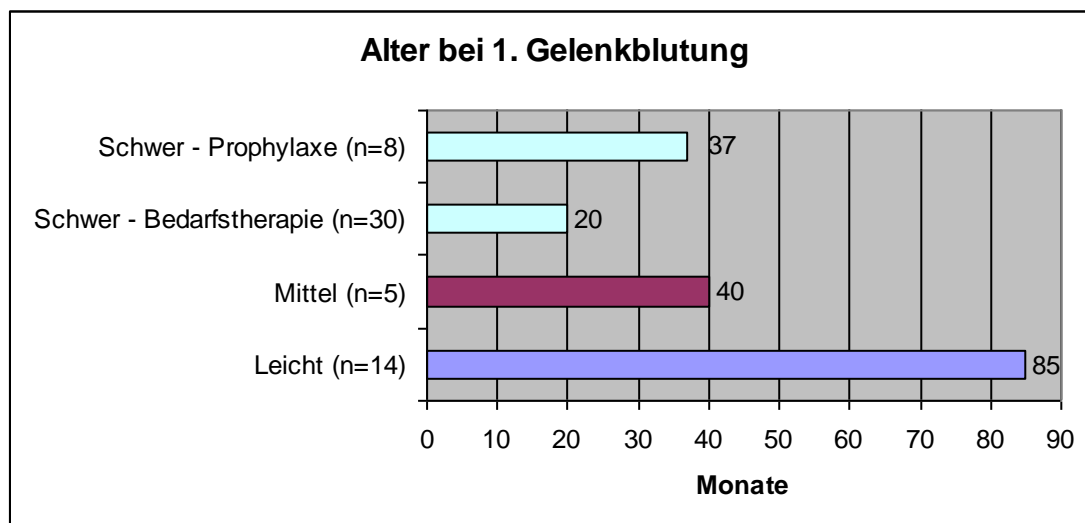


Abb. 27: Alter bei 1. Gelenkblutung

Dargestellt in Abbildung 28 sind die Kaplan-Meier-Kurven, welche die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten der ersten Gelenkblutung zeigen.

Der Log-Rank-Test ergab einen statistisch signifikanten Unterschied aller drei Schweregrade ( $p < 0.01$ ). Aber auch die Gruppen „Mittel“ und „Leicht“ unterscheiden sich signifikant ( $p = 0.002$ ).



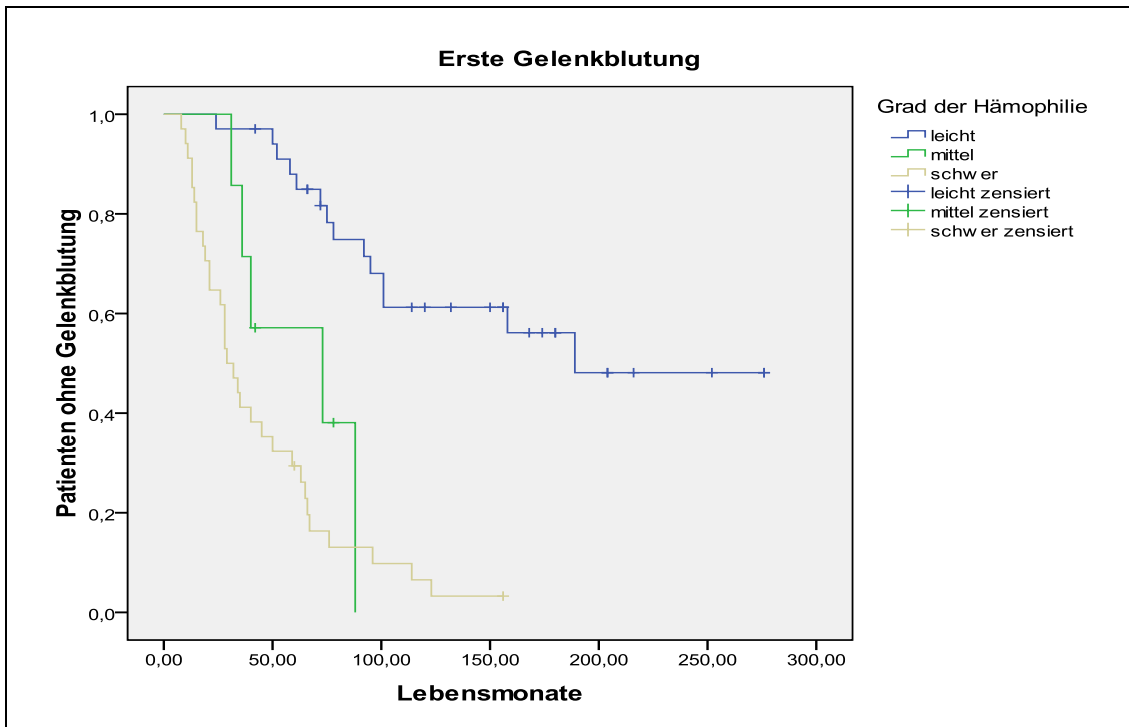


Abb. 28: Kaplan-Meier-Kurve: Erste Gelenkblutung

#### 4.5.4 Hämophiliearthropathie

Eine Hämophiliearthropathie (chronische destruierende Gelenkerkrankung aufgrund wiederholter Gelenkblutungen) entwickelten 6% (n=2/35) der Patienten mit leichter HA, 43% (n=3/7) der Patienten mit mittelschwerer HA und die Hälfte (n=23/46) aller Patienten mit schwerer HA (Abbildung 29). In der Gruppe „Sub“ hatte kein Patient (n=0/16) eine Hämophiliearthropathie, in der Gruppe „Mild“ dagegen 11% (n=2/19).

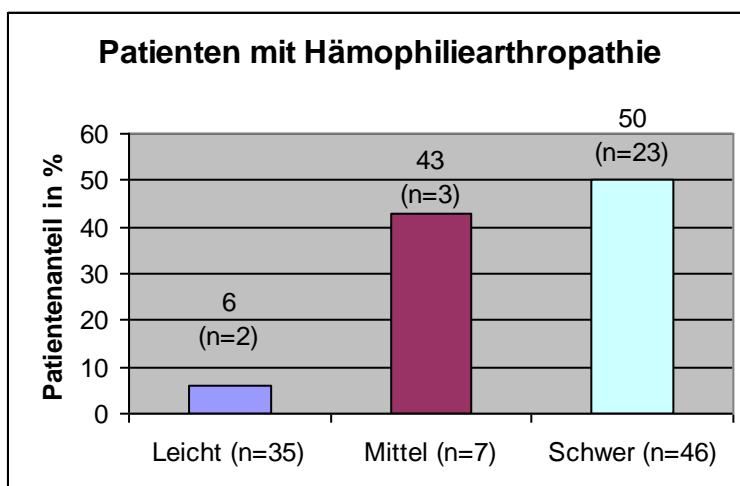


Abb. 29: Patienten mit Hämophiliearthropathie

### Alter bei Diagnose einer Hämophiliearthropathie

Überraschenderweise entwickelten Patienten mit mittelschwerer HA 31 Monate vor den Patienten mit schwerer HA eine Hämophiliearthropathie (vgl. Abbildung 30).

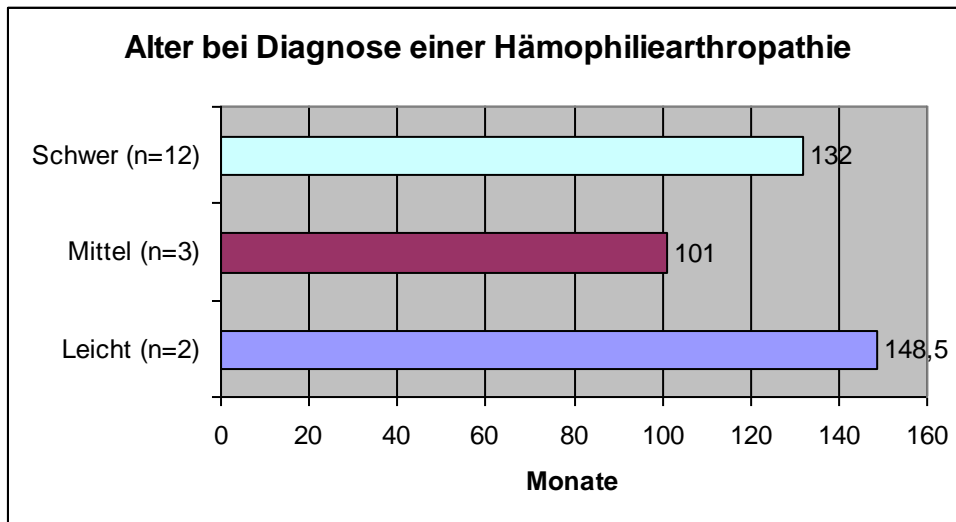


Abb. 30: Alter bei Diagnose einer Hämophiliearthropathie

Vergleicht man die Therapieformen Bedarfs-Therapie, Sekundär-Prophylaxe und Primär-Prophylaxe, so fällt auf, dass bei Patienten mit schwerer HA die Entwicklung einer Hämophiliearthropathie durch eine Primärprophylaxe um 56 Monate verzögert werden konnte und durch eine Sekundärprophylaxe um 41 Monate (vgl. Abbildung 31). Bei Patienten mit mittelschwerer HA lag die Differenz zwischen Bedarfs-Therapie und Sekundär-Prophylaxe bei 11,5 Monaten.

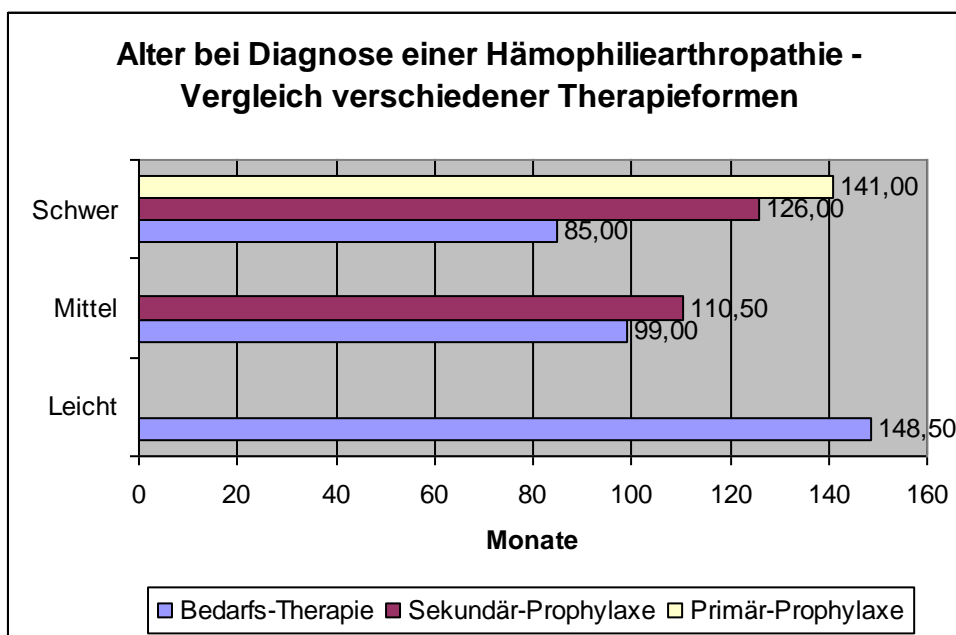


Abb. 31: Alter bei Diagnose einer Hämophiliearthropathie – Therapieformen

### Entwicklung einer Hämophiliearthropathie in Abhängigkeit der Therapieform

Abbildung 32 gibt den Einfluss der Therapieform auf die Entwicklung einer Hämophiliearthropathie wieder. Zu beachten ist, dass nur diejenigen Patienten betrachtet wurden, welche bereits eine Gelenkblutung erfahren hatten. Alle Patienten der Gruppe „Mittel“ (n=1/5) und der Gruppe „Schwer“ (n=7/42), die nach ihrer ersten Gelenkblutung weiterhin im Bedarfsfall substituiert wurden, entwickelten eine Hämophiliearthropathie. Keiner der Patienten (n=0/11) mit schwerer HA, welcher mit der Prophylaxe vor der ersten Gelenkblutung begonnen hatte, wies eine Hämophiliearthropathie auf.

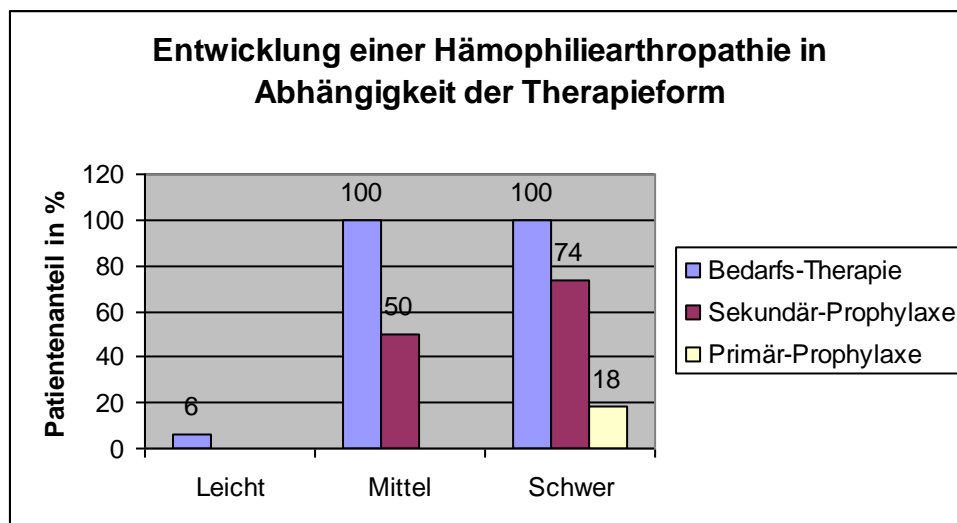


Abb. 32: Hämophiliearthropathie in Abhängigkeit der Therapieform

### Von einer Hämophiliearthropathie betroffene Gelenke

Wie aus Abbildung 33 ersichtlich, waren die Sprunggelenke (SG) mit 70% (n=38/54) am häufigsten von einer Hämophiliearthropathie betroffen. Den zweitgrößten Anteil machten mit 19% (n=10/54) die Ellbogengelenke aus.

Die drei Hämophiliegruppen unterscheiden sich signifikant ( $p < 0.001$ ) bezüglich der Prävalenz an betroffenen Gelenken. Zwischen der mittelschweren und schweren Hämophilie kann man keinen signifikanten Unterschied feststellen.

Von den 54 betroffenen Gelenken kamen 48 auf 23 Patienten (n=23/46) mit schwerer HA, je eines auf drei Patienten (n=3/7) mit mittelschwerer HA und drei auf zwei Patienten (n=2/35) mit leichter HA. Die Häufigkeitsverteilung entsprach in jeder Gruppe der in Abbildung 33 dargestellten.

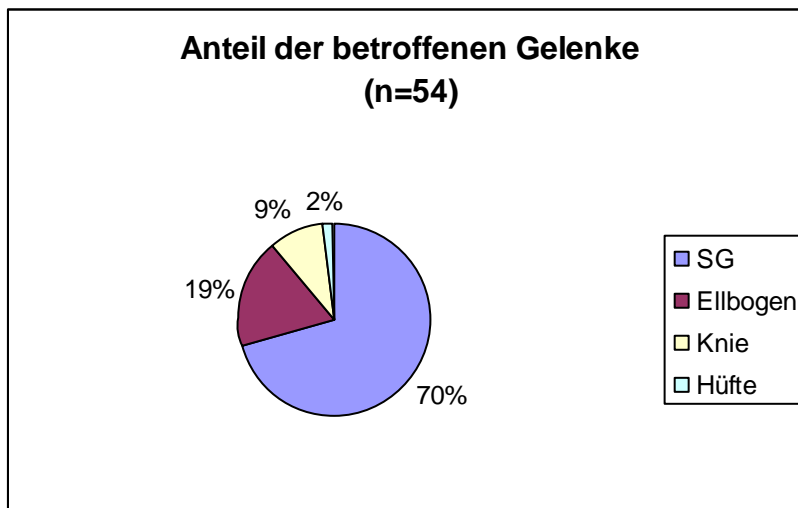


Abb. 33: Von einer Hämophiliearthropathie betroffene Gelenke

#### 4.5.5 Klinische Präsentation von Subhämophilie A und milder HA

Beim Vergleich der Patienten mit Subhämophilie A und milder HA zeigte sich, dass die Erkrankung bei Patienten mit Subhämophilie A (n=16) deutlich leichter verläuft, als bei Patienten mit milder HA (n=19) (vgl. Tabelle 16). Blutungen traten bei Subhämophilen später und insgesamt seltener auf. Da 88% (n=14/16) dieser Patienten mit mindestens einem aPTT Wert in der Norm lagen, dürfte es schwieriger sein, die Hämophilie bei diesem Kollektiv zu diagnostizieren und sie von gesunden Individuen zu unterscheiden.

	Gruppe "Mild" (n=19) FVIII > 5 ≤ 15%	Gruppe "Sub" (n=16) FVIII > 15 ≤ 50%
Diagnosealter	21 Monate	53 Monate
Diagnose wegen einer Blutung	58%	25%
Mindestens 1 aPTT Wert in der Norm	32%	88%
Alter bei 1. Blutung	21 Monate	47 Monate
Art der 1. Blutung	v.a. Offene Blutung nach Trauma (43%)	v.a. postoperative Blutungen (38%)
Keine Blutung	5%	25%
Keine Substitution	11%	31%
1. Substitution wegen einer Blutung	78%	50%
Patienten mit Gelenkblutung	53%	25%
Patienten mit Hämophiliearthropathie	11%	0%
Anzahl der Blutungsepisoden	105	17
Blutungen wegen eines Traumas	54%	82%

Tab. 16: Vergleich der Gruppen „Mild“ und „Sub“

## 4.6 Therapie

### 4.6.1 Substitutionsschema

Bei 20% (n=7/35) der Patienten mit leichter HA war eine Faktorgabe bislang nicht nötig gewesen, bei 14% (n=5/35) nur im Rahmen von Operationen. 63% (n=23/35) dagegen mussten aufgrund von Blutungen substituiert werden. Ein Patient (n=1/35) wurde wegen zahlreicher Blutungsereignisse und nach Entwicklung einer Hämophiliearthropathie auf eine Dauerprophylaxe umgestellt (vgl. Abbildung 34).

Aufgeteilt auf die beiden Untergruppen „Sub“ (n=16) und „Mild“ (n=19) ergaben sich folgende Prozentzahlen:

- Sub: 50% (n=8/16) Bedarfssubstitution, 31% (n=5/16) bislang nie, 19% (n=3/16) nur bei OP

- Mild: 73% (n=14/19) Bedarfssubstitution, 11% (n=2/19) bislang nie, 11% (n=2/19) nur bei OP, 5% (n=1/19) Prophylaxe

Dagegen war bei allen Patienten mit mittelschwerer (n=7) und schwerer HA (n=46) der Einsatz von Faktorkonzentraten nötig. Bei sieben Patienten (n=7/46) der Gruppe „Schwer“ wurde die Prophylaxe erst nach der Diagnose einer Hämophiliearthropathie eingeführt. Die Eltern dreier Patienten mit schwerer HA (7%, n=3/46) erklärten sich mit einer prophylaktischen Faktorgabe nicht einverstanden.

Die drei Hämophiliegruppen unterscheiden sich signifikant ( $p < 0.001$ ) bezüglich der Prophylaxe-Häufigkeit. Die Patienten mit mittelschwerer HA erhielten auch signifikant seltener prophylaktische Faktorgaben als Patienten mit schwerer HA ( $p = 0.015$ ).

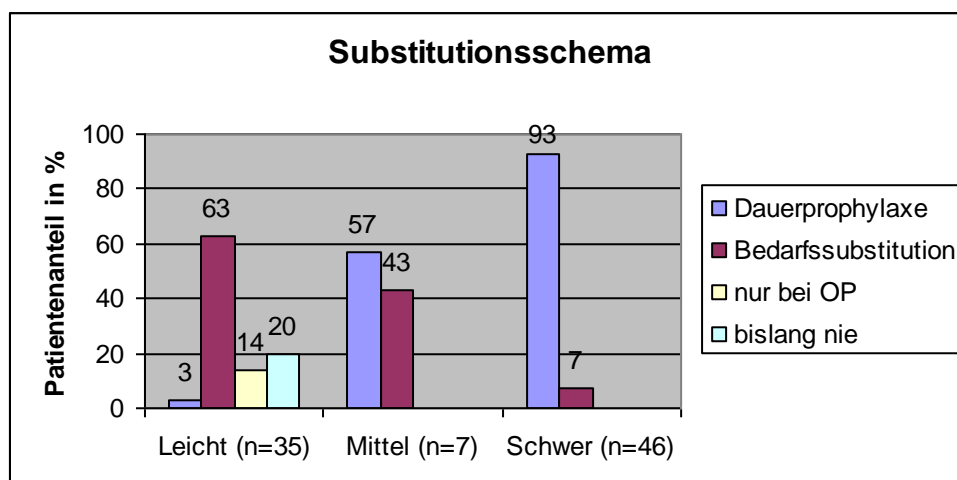


Abb. 34: Substitutionsschema

Die Prophylaxeform ließ sich bei der Gruppe „Schwer“ in zwei Sonderformen unterteilen, nämlich in die Primär-Prophylaxe (Beginn nach höchstens einer Gelenkblutung und vor Erreichen des zweiten Lebensjahres) und in die Sekundär-Prophylaxe (Beginn nach zwei oder mehr Gelenkblutungen oder nach dem zweiten Lebensjahr). 43% (n=20/46) der Patienten mit Prophylaxe erhielten die Primär- und 50% (n=23/46) die Sekundär-Prophylaxe.

Abbildung 35 stellt das Alter beim Prophylaxebeginn dar. Der Median des Alters bei Prophylaxebeginn lag bei Patienten mit schwerer HA und Primärprophylaxe (n=20/46) bei 14,5 Monaten. Bei Patienten mit schwerer HA und Sekundärprophylaxe (n=22/46) lag der Median bei 59 Monaten. Patienten mit mittelschwerer HA (n=4/7) und Patienten mit leichter HA (n=1/35) fingen später mit einer Prophylaxe an (73,5 Monate bzw. 125 Monate).

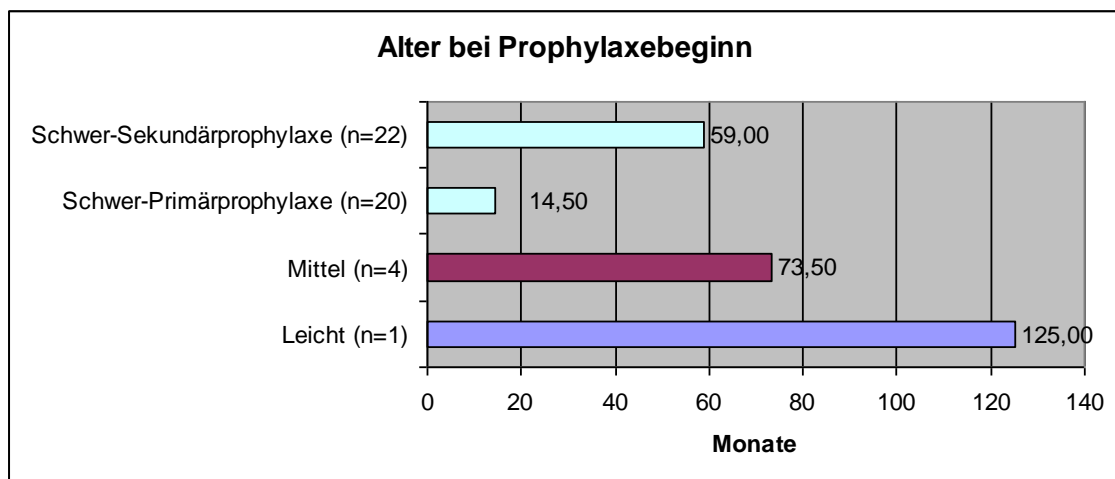


Abb. 35: Alter bei Prophylaxebeginn

#### 4.6.2 Faktorverbrauch

##### Faktorverbrauch der Patienten in substituierten Jahren

Die nachfolgenden drei Abbildungen (36, 37, 38) zeigen den medianen Faktorverbrauch jedes Patienten für die Jahre, in denen er substituiert wurde.

In der Gruppe „Leicht“ wurden pro substituiertem Jahr im Median 115,4 IE/kg Körpergewicht (KG) verabreicht (Range: 30 IE/kg KG - 682,7 IE/kg KG; vgl. Abbildung 36). Dieser Unterschied lässt sich durch die Blutungshäufigkeit erklären. So erhielten manche Patienten nur bei Operationen FVIII, andere benötigten FVIII Gaben in größeren Mengen aufgrund von häufigen Blutungen.

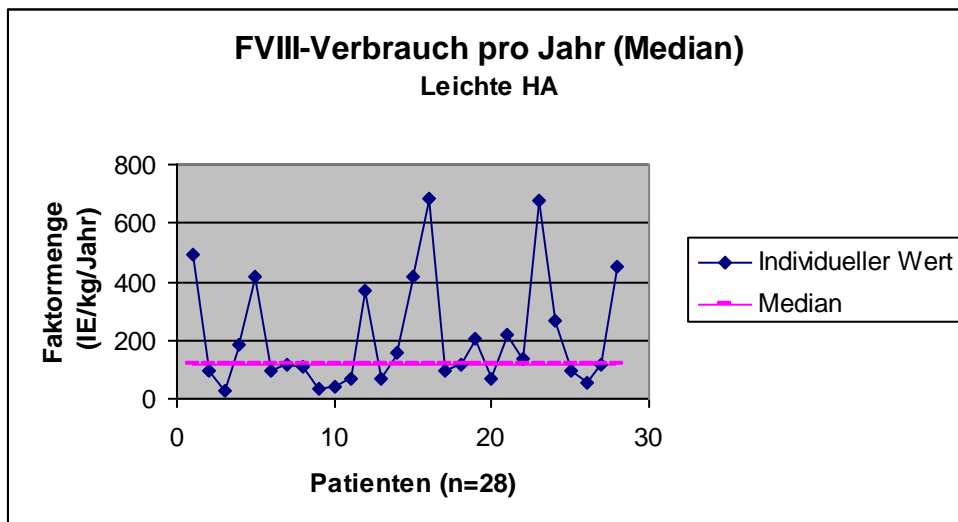


Abb. 36: FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Leicht“

Im Median verbrauchte jeder substituierte Patient mit mittelschwerer HA im Jahr 593,8 IE/kg KG (Range: 77,3 IE/kg KG - 4.545,5 IE/kg KG; vgl. Abbildung 37).

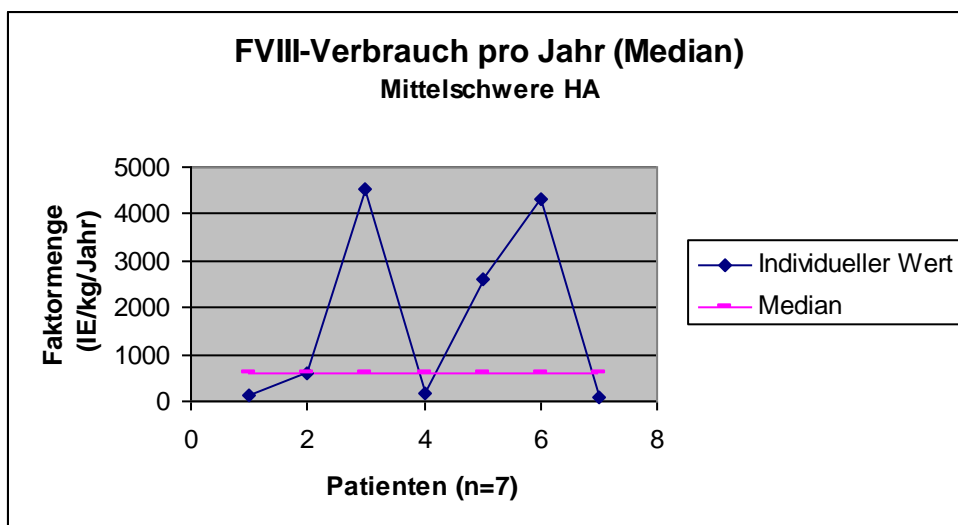


Abb. 37: FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Mittel“

In der Gruppe „Schwer“ lag der Median bei 4.034,3 IE/kg KG (Range: 167,4 IE/kg KG – 10.422,9 IE/kg KG; vgl. Abbildung 38).

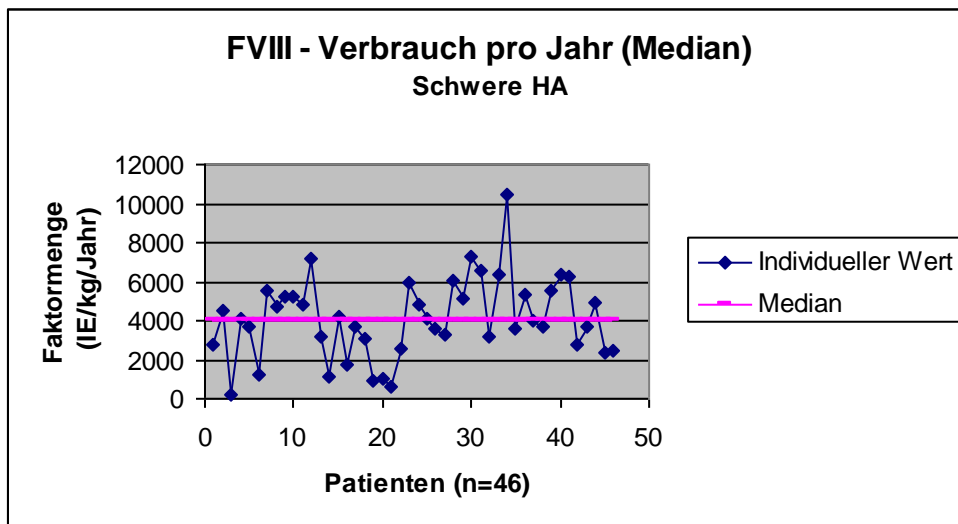


Abb. 38: FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Schwer“

### Faktorverbrauch in Abhängigkeit vom Alter

Die Abbildungen 39, 40, und 41 zeigen die Korrelation von Faktorverbrauch und Lebensalter.

In der Gruppe „Leicht“ konnte ein kontinuierlicher Anstieg des Faktorverbrauchs bis zum 7. Lebensjahr beobachtet werden. Danach war im 8. Lebensjahr ein Peak im Faktorverbrauch auszumachen. In den folgenden Lebensjahren schwankte der Verbrauch erheblich. Der mediane Faktorverbrauch zwischen dem 8. und 15. Lebensjahr lag bei 221,8 IE/kg KG. Ab dem 16. Lebensjahr stieg der Verbrauch wieder kontinuierlich an. Insgesamt wurde im 9. Lebensjahr mit 38,5 IE/kg KG (Median) am wenigsten und im 19. Lebensjahr mit 595,7 IE/kg KG (Median) am meisten Faktor verbraucht.

Aus diesen Daten kann man ableiten, dass der Faktorverbrauch in den ersten Schuljahren und beim Start ins Berufsleben erhöht war.



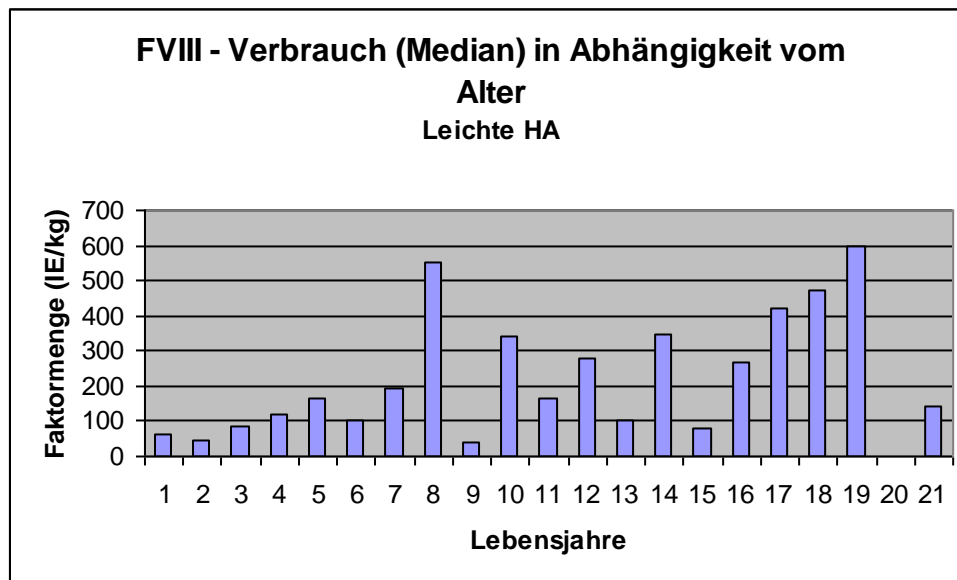


Abb. 39: FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Leicht“

Bei den Patienten mit mittelschwerer HA erhöhte sich ab dem 4. Lebensjahr der Faktorverbrauch. Ab dem 7. Lebensjahr sank er bei den Patienten mit Bedarfstherapie wieder. Hier waren drei Patienten (n=3/7) auf eine Prophylaxe-Behandlung umgestellt worden. Danach konnte nur noch der Verbrauch eines Patienten mit Bedarfstherapie bis zum 11. Lebensjahr verfolgt werden. Bis zum 9. Lebensjahr stieg der Verbrauch an und im 10. und 11. Lebensjahr sank er wieder. Ein längerer Zeitraum des Faktorverbrauchs der Patienten mit einer Bedarfstherapie konnte altersbedingt nicht verfolgt werden. Der niedrigste Faktorverbrauch dieser Patientengruppe lag bei 76,9 IE/kg KG (Median) im 7. Lebensjahr und der höchste im 9. Lebensjahr bei 933,3 IE/kg KG (Median).

Der Faktorverbrauch der Patienten mit Prophylaxe stieg vom 8. bis zum 10. Lebensjahr kontinuierlich und sank dann wieder bis zum 12. Lebensjahr ab. Mit dem 13. Lebensjahr stieg er erneut leicht an und blieb die folgenden Jahre in etwa auf dem gleichen Niveau mit leicht abnehmender Tendenz. Der niedrigste Faktorverbrauch war mit 3.285,7 IE/kg KG (Median) im 19. Lebensjahr zu finden und der höchste mit 5.300,0 IE/kg KG (Median) im 10. Lebensjahr.

Aus der Abbildung 40 kann man somit ablesen, dass sich eine Prophylaxebehandlung für Patienten mit mittelschwerer HA erst ab dem Beginn der Schulzeit als notwendig erwiesen hat. Der Verbrauch war in dieser Gruppe in den ersten Schuljahren am höchsten. Ein Anstieg ab dem 16. Lebensjahr wie in der Gruppe „Leicht“ war hier nicht zu beobachten, eher eine abnehmende Tendenz.

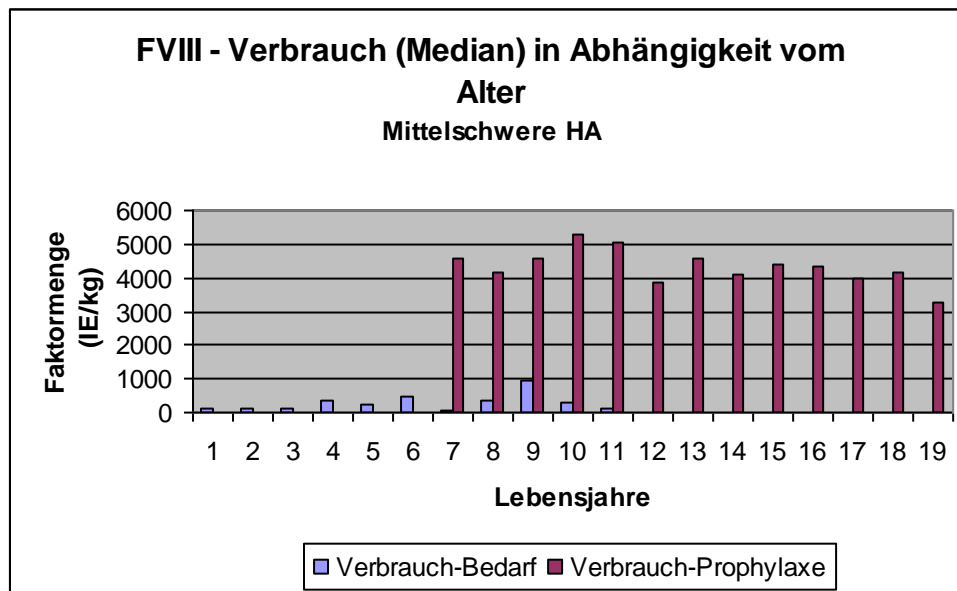


Abb. 40: FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Mittel“

In der Gruppe „Schwer“ setzte die Prophylaxe massiv im 2. Lebensjahr ein. Der Faktorverbrauch blieb bei den Patienten mit einer Prophylaxe-Behandlung immer sehr hoch und schwankte zwischen 2.677,8 und 5.469,0 IE/kg KG. Ab dem 17. Lebensjahr zeichnete sich eine abnehmende Tendenz im Faktorverbrauch ab. Der niedrigste Faktorverbrauch war im 1. Lebensjahr mit 800,0 IE/kg KG (Median) zu beobachten, der höchste im 5. Lebensjahr mit 5.469,0 IE/kg KG (Median).

Einen anderen Verlauf wiesen die drei Patienten mit einer Bedarfs-Therapie auf.

Ab dem 9. Lebensjahr, kurz vor Beginn der Pubertät, war ein kontinuierlicher Anstieg im Faktorverbrauch zu beobachten. Ein markanter Anstieg erfolgte im 14. und 15. Lebensjahr, also gegen Ende der Pubertät. Im 15. Lebensjahr übertraf der Verbrauch sogar den der Patienten mit einer Prophylaxe-Therapie. Am wenigsten Faktor wurde im 1. Lebensjahr mit 156,3 IE/kg KG (Median) benötigt, am meisten im 15. Lebensjahr mit 4.632,4 IE/kg KG (Median).

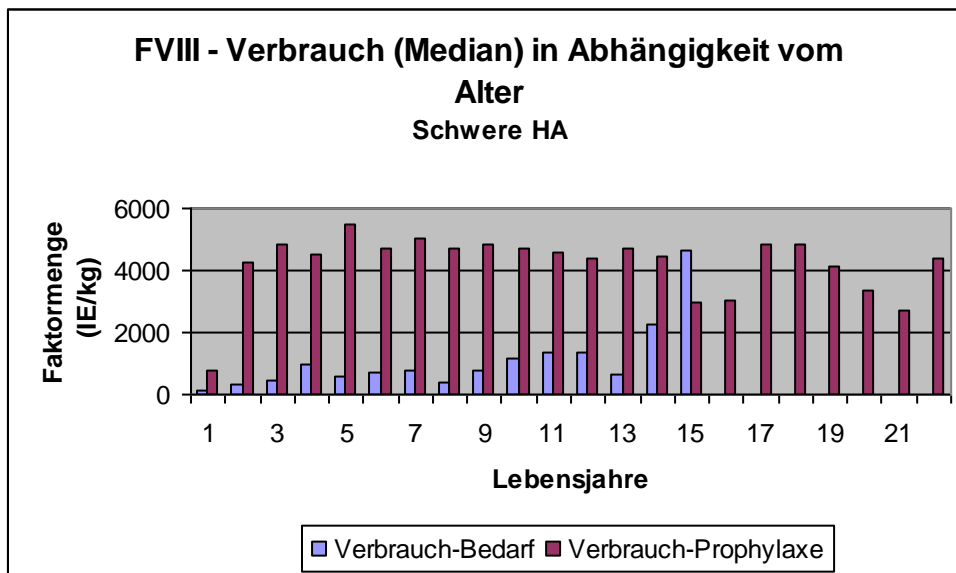


Abb. 41: FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Schwer“

#### 4.6.3 Klinikbesuche

Abbildung 42 zeigt, wie oft sich die Patienten der einzelnen Gruppen im Schnitt jährlich ambulant vorstellten. Dabei stieg die Anzahl der Klinikbesuche mit zunehmendem Schweregrad. Durch eine Prophylaxebehandlung konnte in der Gruppe „Mittel“ und in der Gruppe „Schwer“ die Anzahl der Vorstellungen gesenkt werden.

Unterscheidet man noch zwischen Patienten mit Subhämophilie A und milder HA, so kamen erstere im Schnitt 1,15-mal pro Jahr in die Klinik und letztere 2,27-mal.

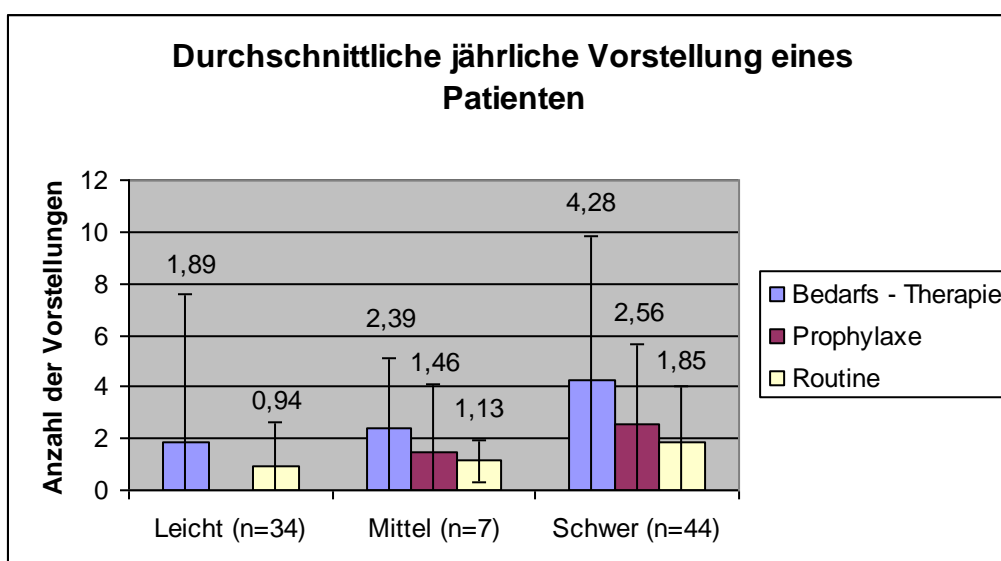


Abb. 42: Durchschnittliche jährliche Vorstellung

Patienten mit schwerer HA und Prophylaxe kamen signifikant häufiger zur Routineuntersuchung als Patienten aller Schweregrade, die nur bei Bedarf behandelt wurden ( $p= 0.0001$ ). Zwischen Patienten mit schwerer und mittelschwerer HA war der Unterschied auch bei Prophylaxe signifikant ( $p= 0.0220$ ).

### Grund für Klinikbesuch

Neben der durchschnittlichen jährlichen Vorstellung war es auch Ziel herauszufinden, welchen Anteil an den Besuchen Routineuntersuchung, Vorstellungen wegen einer Blutung oder Operationsvorbereitungen ausmachten (vgl. Tabelle 17). Dabei fiel auf, dass Patienten mit leichter HA häufiger wegen Blutungen kamen, als Patienten mit schwerer HA unter Prophylaxe. Dagegen stellten sich Patienten mit schwerer HA und Bedarfstherapie häufiger wegen einer Blutung vor, als Patienten mit leichter und mittelschwerer HA ( $p= 0.0006$ ). Unter Prophylaxe gab es keine Unterschiede ( $p= 0.2395$ ).

Schweregrad - Therapie	Patientenanzahl	Anzahl der Klinikbesuche	Routine	Blutung	OP
<b>Leicht</b> - Bedarfstherapie	n=34	656	66%	32%	2%
<b>Mittel</b> - Bedarfstherapie	n=6	86	66%	33%	1%
<b>Mittel</b> - Prophylaxe	n=4	51	72%	24%	4%
<b>Schwer</b> - Bedarfstherapie	n=22	475	61%	38%	1%
<b>Schwer</b> - Prophylaxe	n=40	982	81%	16%	3%

Tab. 17: Grund für Klinikbesuche

Betrachtet man die beiden Untergruppen „Sub“ und „Mild“, fällt auf, dass in der Untergruppe „Sub“ Blutungen weniger vertreten waren.

Gruppe „Leicht“	Patientenanzahl	Anzahl der Klinikbesuche	Routine	Blutung	OP
Sub	n=15	142	70%	24%	6%
Mild	n=19	514	64%	34%	2%

Tab. 18: Grund für Klinikbesuche – Gruppe „Leicht“

Wie aus Abbildung 43 ersichtlich, waren etwa 60% ( $n=71/122$ ) der Blutungen bei Patienten mit leichter HA durch ein Trauma ausgelöst worden, in der Gruppe „Mittel“ und „Schwer“ war bei weniger als der Hälfte die Ursache angegeben.

Ein deutlicher Unterschied zeigte sich beim Vergleich der Untergruppen „Sub“ und „Mild“ hinsichtlich traumatischer oder spontaner Blutungen. Patienten mit Subhämophilie A gaben in 82% ( $n=14/17$ ) der Fälle eine Ursache an, bei Patienten mit milder HA war nur in 54% ( $n=57/105$ ) der Fälle ein Trauma erinnerlich. Insgesamt

machten die Blutungen der Gruppe „Sub“ nur 13,9% (n=14/122) der Blutungen der Gruppe „Leicht“ aus.

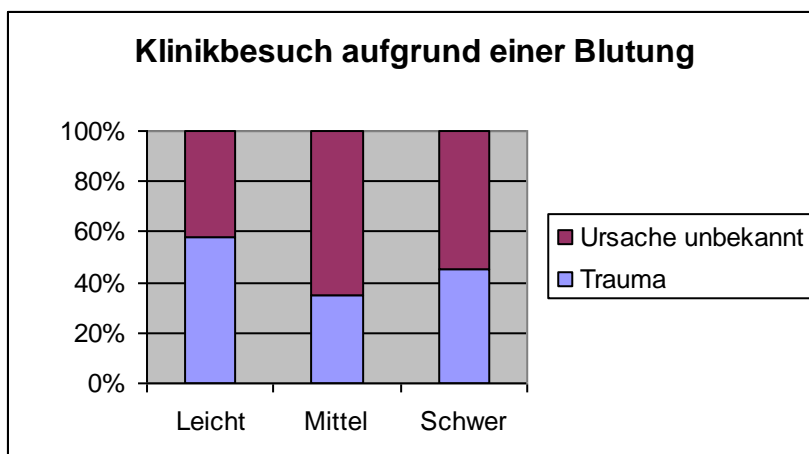


Abb. 43: Klinikbesuche wegen Blutungen – Trauma vs. Spontan

Tabelle 19 zeigt, dass bei fast allen Blutungen („Leicht“: 95,9%, n=117/122; „Mittel“: 78,3%, n=18/23; „Schwer“: 96,9%, n=311/321), wegen derer die Klinik aufgesucht wurde, Faktor verabreicht werden musste, lediglich bei Patienten mit mittelschwerer HA wurde vermehrt Cyklokapron (Tranexamsäure) im Rahmen von Schleimhautblutungen eingesetzt. Patienten mit leichter HA kamen wegen einer Blutung an mehr aufeinander folgenden Tagen in die Klinik als Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA.

	Leicht	Mittel	Schwer
Blutungsepisoden	122	23	321
Blutungen mit Faktorgabe	95,9%	78,3%	96,9%
Blutungen mit Gabe von Cyklokapron	1,6%	13,0%	0%
Tage hintereinander in der Klinik	7	5	4

Tab. 19: Blutungsepisoden

### Dauer bis Klinikbesuch

Am längsten warteten Patienten mit leichter HA bis sie wegen einer Blutung in die Kinderklinik kamen, im Schnitt 2,6 Tage (Range: 0 – 42 Tage). Patienten mit mittelschwerer HA kamen nach 1,2 Tagen (Range: 0 – 6 Tage) und Patienten mit schwere HA nach 1,4 Tagen (Range: 0 – 28 Tage).

### Blutungsarten

Bei allen drei Gruppen kamen die Patienten am häufigsten wegen Gelenk- und Weichteilblutungen (vgl. Abbildung 44). Die Gelenkblutungen waren prozentual fast

gleich vertreten (Leicht: 34%, n=42/122; Mittel: 35%, n=8/23; Schwer: 32%, n=102/321). Mögliche Ursache für den hohen Anteil an Weichteilblutungen (41%, n=131/321) in der Gruppe „Schwer“ könnte sein, dass diese Blutungen bei Patienten mit schwerer HA ausgeprägter oder schmerzhafter sind, als bei den anderen Schweregradgruppen. Eine andere Erklärung wäre, dass diese Patienten bzw. deren Eltern gegenüber Blutungen stärker sensibilisiert sind und eher die Klinik aufsuchen.

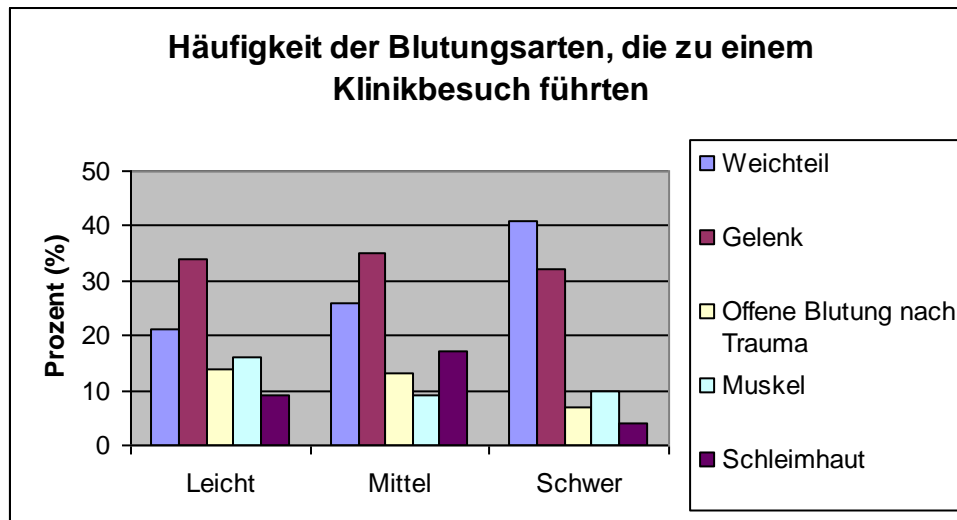


Abb. 44: Klinikbesuche - Häufigkeit der Blutungsarten

## 4.7 Zusätzliche Erkrankungen

### 4.7.1 Prothrombotische Risikofaktoren

Auf das Vorliegen prothrombotischer Risikofaktoren, wie in Abbildung 45 beschrieben, wurden 54% (n=19/35) der Patienten mit leichter HA untersucht, 71% (n=5/7) der Patienten mit mittelschwerer HA und 81% der (n=40/46) Patienten mit schwerer HA. Von den untersuchten Patienten wiesen je sieben (n=7/19) der Gruppe „Leicht“ einen Risikofaktor auf, von der Gruppe „Mittel“ wies ein Patient (n=1/5) zwei Risikofaktoren auf und von der Gruppe „Schwer“ hatten 12 Patienten (n=12/40) einen Risikofaktor und ein Patient (n=1/40) zwei Risikofaktoren.

Die Prävalenz von Thromboserisikofaktoren wird für die Normalbevölkerung mit 10 - 15% angegeben [9]. Wie Abbildung 45 zeigt, weichen davon Patienten mit einer HA nicht ab.

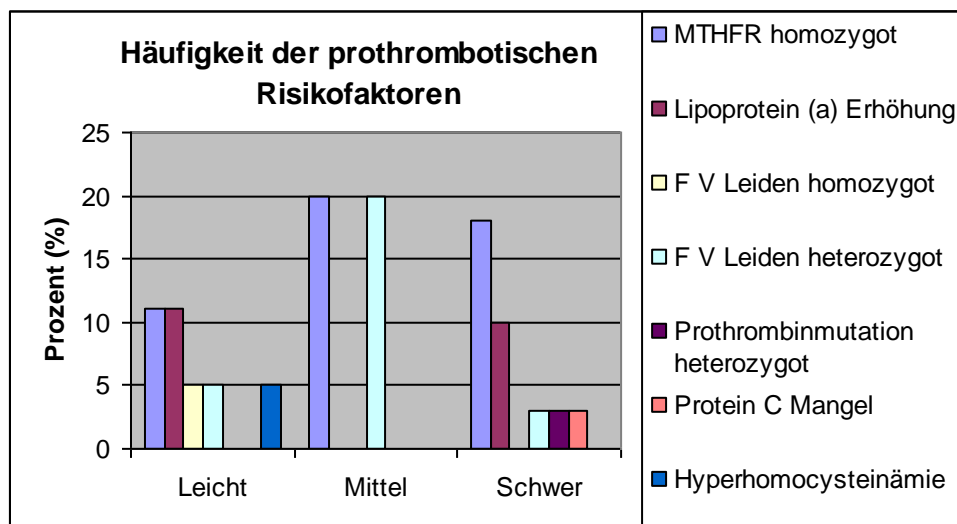


Abb. 45: Häufigkeit prothrombotischer Risikofaktoren

### Daten der Patienten mit leichter HA

Wie in 1.2.5 dargelegt, zeigten einige Studien, dass der klinische Phänotyp bei Patienten mit schwerer HA durch thrombotische Risikofaktoren abgemildert wird. Nachfolgende Tabelle 20 enthält die Daten der Patienten der Gruppe „Leicht“, bei welchen prothrombotische Risikofaktoren nachgewiesen worden waren. Die erste Blutung bei Patienten mit zusätzlicher Thrombophilie fand im Median mit 56 Monaten und damit später als im Median bei Patienten mit leichter HA statt. Vier der sieben Patienten mit zusätzlicher Thrombophilie hatten keine Gelenkblutung erlitten und die restlichen drei der sieben lagen mit 95 Monaten etwas über dem medianen Auftreten der ersten Gelenkblutung bei Patienten der Gruppe „Leicht“ ohne zusätzliche Thrombophilie (n=28/35). Auch der Faktorverbrauch war mit 96,2 IE/kg KG (Median) niedriger.

Patient	Thrombotischer Risikofaktor	1. Blutung (Monate)	1. Gelenkblutung (Monate)	Faktorverbrauch (IE/kg KG pro Jahr)	Therapie
1	Lp (a)	121	keine	0	bislang nie
2	FV Leiden homozygot	16	95	97,2	Bedarf
3	FV Leiden heterozygot	56 (OP)	keine	0	bislang nie
4	MTHFR homozygot	72	72	95,2	Bedarf
5	MTHFR homozygot	7	keine	0	bislang nie
6	Hyperhomocysteinämie	64	keine	67,8	Bedarf
7	Lp (a)	42 (OP)	120	452,4	nur bei OP
Median*		<b>20</b>	<b>78</b>	<b>127,58</b>	

Lp (a): Lipoprotein (a) Erhöhung  
 \* Medianwerte der Patienten der Gruppe „Leicht“ ohne zusätzliche Thrombophilie

Tab. 20: Daten der Patienten mit thrombotischen Risikofaktoren - Gruppe „Leicht“

#### 4.7.2 ADHS

Ein Patient der Gruppe „Leicht“ litt an einer Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) und war bezüglich der Ausprägung seiner leichten HA auffällig (vgl. Tabelle 21). In einem Jahr stellte er sich 88-mal wegen Blutungen in der Kinderklinik vor, was durch Einführung der Prophylaxe-Behandlung auf 4-mal pro Jahr reduziert werden konnte.

	1. Blutung (Monate)	1. Gelenkblutung (Monate)	Faktorverbrauch (IE/kg KG pro Jahr)	Therapie	Mediane Klinikbesuche (pro Jahr)
Patient	1	61	471,9	Prophylaxe	13,6
Median*	26	92	113,24		1

\* Medianwerte der Patienten der Gruppe „Leicht“ ohne ADHS

Tab. 21: Daten des Patienten mit ADHS

#### 4.7.3 von-Willebrand-Syndrom

Bei drei (n=3/35) Patienten konnte ein mildes vWS nicht sicher ausgeschlossen werden (s. Tabelle 22). Wegen der Heterogenität der Erkrankung sowie der Akute-Phase-Reaktion des vWF ist die Diagnose oft nicht eindeutig, weshalb Tests wiederholt werden müssen [1]. Die Anzahl dieser Patienten ist zu gering, um eine Aussage über die Auswirkung eines zusätzlichen vWS auf die Hämophilie Erkrankung (z.B. erhöhte Blutungsneigung) machen zu können. Alle drei Patienten werden mit vWF-haltigem Konzentrat behandelt.

	Patientenzahl n	
Leichte HA	1	mildes vWS Typ 1 möglich
	1	mildes vWS Typ 1 möglich
		heterozygoter Träger vWS Typ 2N
Schwere HA	1	vWS Typ 1 möglich

Tab. 22: Daten der Patienten mit vWS

#### 4.7.4 Infektionen

In der Gruppe „Schwer“ wies ein Patient (24 Jahre alt, Aufenthalt bis zum 16. Lebensjahr im Kosovo) eine Hepatitis C sowie eine abgelaufene Hepatitis A und B Infektion auf. Alle anderen Patienten hatten keine Infektionen.



## 5. Diskussion

Ziel dieser retrospektiven Studie „Diagnostik, Verlauf und Therapie der leichten Hämophilie A im Vergleich zur schweren Form“ ist es, die Diagnosefindung, Therapie und Prognose für die Patienten mit einer leichten HA zu verbessern. Fallberichte aus der Literatur sowie Erfahrungen des Dr. von Haunerschen Kinderspitals zeigten, dass diagnostische und therapeutische Verzögerungen zu schweren Komplikationen führen können.

Bei der vorliegenden Studie wurden zum ersten Mal umfassende Daten aus einem Zeitraum von 24 (1985 – 2009) Jahren von 88 männlichen Patienten mit HA des Dr. von Haunerschen Kinderspitals ausgewertet. Dabei wurden die Daten aller Patienten mit leichter HA (n=35) mit denen aller Patienten mit mittelschwerer HA (n=7) sowie mit denen von 46 nach dem Geburtsjahr gematchter Patienten mit schwerer HA verglichen. Im Gegensatz zur bisher vorhandenen und eher alten Literatur, die hauptsächlich aus Fallberichten besteht, wurden alle Aspekte der leichten HA untersucht und behandelt.

Es stellte sich heraus, dass die Erkrankung bei Patienten mit leichter HA signifikant später diagnostiziert wurde, als bei Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA ( $p=0.03$  bzw.  $p<0.001$ ). Dabei führte eine positive Familienanamnese zu einer deutlich früheren Diagnose als ein Blutungsereignis. Jedoch wurde bei 18% der Patienten die Diagnose trotz positiver Familienanamnese erst aufgrund einer Blutung gestellt. Die erste Blutung sowie die erste Substitution erfolgten signifikant später bei Patienten mit leichter HA ( $p<0.001$ ). Auch Arthropathien traten signifikant später auf ( $p<0.001$ ).

Insgesamt kamen Patienten mit einer leichten HA seltener zu Routineuntersuchungen in das Dr. von Haunersche Kinderspital als Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA ( $p=0.0001$ ). Im Falle einer Blutung suchten sie später medizinische Hilfe auf als Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA.

### 5.1 Diskussion der Klassifizierungsmöglichkeiten

Die Einteilung der Patienten in verschiedene Gruppen erwies sich insofern als schwierig, als es verschiedene Klassifizierungen der Hämophilie gibt. So definiert z. B. im UK die Haemophilia Alliance National Service Specification die schwere Hämophilie mit einer Faktorrestaktivität  $< 2\%$ , die mittelschwere mit  $2 - 10\%$  und die leichte Hämophilie mit  $> 10\%$  [75]. Dagegen teilt in Deutschland die BÄK die Hämophilie in vier Schweregrade ein: schwer  $< 1\%$ , mittelschwer  $1 - 5\%$ , mild  $> 5 \leq 15\%$  und sub  $> 15 \leq 50\%$  [8]. Schließlich wurden die Gruppen nach den Empfehlungen des Scientific Subcommittee on Factor VIII and Factor IX des SSC der ISTH gebildet, die zur Vereinheitlichung der Definitionen führen und der besseren Vergleichbarkeit von

Studien dienen sollen. Jedoch zeigten die Ergebnisse der vorliegenden Studie, dass die Einteilung der BÄK, die zwischen Patienten mit milder Hämophilie und Subhämophilie unterscheidet, besser dem klinischen Bild entspricht (vgl. Tabelle 16 auf Seite 55). Allgemein ist es fraglich, die Klassifizierung nur anhand von Laborwerten zu treffen ohne dabei die klinische Blutungsneigung zu berücksichtigen. Diese kann, wie auch für Patienten mit leichter HA gezeigt werden konnte, durch das gleichzeitige Vorliegen anderer hämostatischer Defekte (Thrombose-Risikofaktoren) oder Erkrankungen wie die ADHS erheblich beeinflusst werden.

Erschwert wird die Klassifizierung der Patienten mit leichter HA zudem durch die Diskrepanzen der Messmethoden für die FVIII Aktivität. Dies wird mit der unterschiedlichen FVIII Aktivierung und den verschiedenen langen Inkubationszeiten in Verbindung gebracht. Von Missensemutationen an Stellen zwischen den A-Domänen (A1-A2, A1-A3, A2-A3) nimmt man an, dass sie die Stabilität des FVIII beeinflussen und zu einer schnelleren Inaktivierung führen [76]. Im Zweistufentest verursacht die längere Inkubationszeit während der ersten Phase des Tests eine beschleunigte Dissoziation der A2 Domäne, was die Aktivität von FVIII reduziert [45].

Man schätzt, dass etwa ein Drittel aller Patienten mit leichter HA diese Diskrepanz aufweisen [77], wobei die meisten bisher untersuchten Patienten höhere FVIII Aktivitäten im Einstufentest aufwiesen als im Zweistufentest bzw. bei der chromogenen Substratmethode. Je nach verwendeter Methode kann sich die Klassifikation der Patienten ändern. Poulsen et. al. stellten fest, dass 19% ihrer 92 untersuchten Patienten mit leichter HA bei Verwendung der chromogenen Substratmethode in die Gruppe der mittelschweren HA übergehen würden. Sie fordern aufgrund dieses Ergebnisses den Einsatz beider Messmethoden bei der Diagnose der leichten HA Patienten, bis eine exaktere Diagnosestrategie verfügbar ist [76].

Wahrscheinlich ist zudem, dass bei einigen Patienten mit normalen Werten im Einstufentest, aber niedrigeren Werten bei den anderen beiden Messmethoden, die korrekte Diagnose nicht gestellt wird. Da auch im Dr. von Haunerschen Kinderspital der Einstufentest benutzt wird, welcher die Standardmethode in den meisten Laboren darstellt [78], ist es gut möglich, dass Patienten mit leichter HA übersehen wurden.

Von den bisher bekannten Mutationen, bei denen der Einstufentest höhere FVIII Aktivitäten aufwies als die chromogene Substratmethode, waren drei der in dieser Studie untersuchten Patienten betroffen. Zwei hatten die Missensemutation p.Arg527Trp und einer die Mutation p.Arg698Trp. Da von 13 Patienten die Mutationen noch nicht vorher beschrieben worden waren, ist unklar, welche davon ebenfalls von dieser Methoden-Diskrepanz betroffen sind.

Bis jetzt herrscht keine Einigkeit, welche der Messmethoden am Besten den Schweregrad der Hämophilie reflektiert. Ein viel versprechendes Diagnosemittel zur

Einschätzung des klinischen Blutungsrisikos scheint die Thrombelastographie und vor allem die Messung der Thrombin-Bildung zu sein. Diese Methoden erfassen den ganzen Prozess der Hämostase auf eine physiologischere und ganzheitlichere Art und Weise, während die Methode der aPTT auf künstlich geschaffenen Kompartimenten der Hämostase beruht [79-80]. Brummel-Ziedins et al. konnten zeigen, dass die maximale TF-induzierte Thrombin-Bildung in Beziehung zum Blutungstyp steht [31]. Allerdings müssen diese Methoden noch hinsichtlich ihrer Reagenzien, Methodik und Interpretation der Ergebnisse standardisiert werden, damit sie im Routinelabor Einzug nehmen können.

## **5.2 Diskussion der Patientendaten und der Auswertungsverfahren**

Bezüglich der Auswertung muss berücksichtigt werden, dass es sich um Patienten aus verschiedenen Geburtsjahrgängen handelte und die klinische Entwicklung der Patienten nicht über einen gleich langen Zeitraum verfolgt werden konnte. Zudem hat sich die Therapiestrategie in diesen Jahren verändert. So wurden im Jahr 2010 Patienten früher mit Faktor behandelt als 1985.

Die Altersangaben im Ergebnisteil bezogen sich nur auf Patienten, bei denen das Ereignis bereits eingetreten war. Diesem Umstand trug der Einsatz von Kaplan-Meier-Kurven Rechnung. Sie zeigen mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Ereignis zu einem bestimmten Zeitpunkt eingetreten war. Außerdem wurde das Vergleichskollektiv der Patienten mit schwerer HA aus etwa denselben Geburtsjahrgängen wie die Kollektive der leichten und mittelschweren HA Patienten gebildet, um eine vergleichbare Altersstruktur zu erreichen und Unterschiede durch verschiedene Therapiestrategien in verschiedenen Jahren zu minimieren.

Insgesamt gab es im Krankengut des Dr. von Haunerschen Kinderspitals nur sieben Patienten, bei denen eine mittelschwere HA im untersuchten Zeitraum diagnostiziert worden war. Aufgrund dieser geringen Anzahl ist die Aussagekraft der Ergebnisse dieser Gruppe stark eingeschränkt.

Zum Aktenstudium muss angemerkt werden, dass die Anamnesedaten nicht von standardisierten Anamnesebögen stammten, sondern von den verschiedenen Ärzten der Kinderklinik unterschiedlich ausführlich notiert wurden. Das betrifft unter anderem die Eigen- und Familienanamnese sowie die Angaben, ob eine Blutung durch ein Trauma ausgelöst wurde oder nicht.

## **5.3 Diskussion der Diagnoseergebnisse**

Der Hauptanlass für die Diagnose HA war bei allen drei Patientengruppen ein Blutungsereignis (Leicht 43%, Mittel 57%, Schwer 54%). Hinsichtlich des Alters, in dem

die erste Blutung stattfand, unterschieden sich jedoch die drei Gruppen signifikant ( $p < 0.001$ ). Das bedeutet, dass die Erstmanifestation der Hämophilie dem Schweregrad der Hämophilie entspricht. Das Diagnosealter wurde aber nicht nur durch den Schweregrad der HA (Leicht: 44 Monate, Mittel: 12 Monate, Schwer: 7 Monate) sondern auch durch die Familienanamnese beeinflusst. Vor allem bei Patienten mit leichter HA wurde die Krankheit durch eine positive Familienanamnese früher diagnostiziert, im Median um 22,5 Monate eher als wegen einer Blutung. Dies hebt die Bedeutung der Familienanamnese für die Diagnose einer leichten HA hervor. Eine exakte Diagnose ist Voraussetzung für eine spezifische Therapie. Die Diagnose sollte möglichst früh gestellt werden, um irreversible Schäden zu vermeiden und das Auftreten lebensbedrohlicher Blutungen zu verhindern.

Immerhin hatten sich 18% der Patienten mit leichter HA trotz positiver Familienanamnese nicht zum Screening vorgestellt und wurden erst nach einem Blutungsereignis auf das Bestehen einer HA getestet. Bei Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA war dies nicht so oft der Fall (14% und 9%).

Daraus lässt sich die Forderung ableiten, dass vom Pädiater im ersten Lebensjahr nach dem Vorhandensein familiärer Blutungskrankheiten gefragt werden sollte und dass alle Neugeborenen, bei denen eine familiäre HA bekannt ist, sofort labortechnisch abgeklärt werden sollten, unabhängig davon, ob schon klinische Blutungssymptome aufgetreten sind oder nicht. Der Nutzen der Familienanamnese wird jedoch oft eingeschränkt durch den Mangel an genauen klinischen Details über Familienmitglieder, die von einer Blutungskrankheit betroffen sind [81].

Des Weiteren sollten die Eltern von hämophilen Kindern über die Erbllichkeit und den Vererbungsmechanismus genau aufgeklärt werden, mit der Aufforderung ihre Verwandten zu informieren und auf den Nutzen einer genetischen Beratung hinzuweisen, vor allem zur Identifikation von Konduktorinnen. Diese Notwendigkeit findet darin Ausdruck, dass die Vorstellung trotz positiver Familienanamnese oft erst bei Blutungen erfolgte. Das heißt, dass der Erkrankung in den betroffenen Familien noch zu wenig Beachtung geschenkt wird.

Da die Prävalenz für das sporadische Auftreten der Hämophilie auf 30 bis 40% geschätzt wird [1], ist es wichtig die Diagnose frühzeitig anhand der klinischen Blutungszeichen zu stellen. Definiert man sporadisch als leere Familienanamnese, liegt die Prävalenz beim untersuchten Patientengut dieser Studie bei 49%.

Um eine frühe Diagnose zu ermöglichen, könnte der Einsatz eines standardisierten Blutungsfragebogens - wie er im Rahmen einer präoperativen Diagnostik eingesetzt wird - möglichst mit gezielten Fragen, die auf eine Hämophilie hinweisen, von Nutzen sein, insbesondere da es sich um die zweithäufigste angeborene

Blutgerinnungsstörung nach dem vWS handelt. Dieser Blutungsfragebogen sollte gerade in den ersten beiden Lebensjahren und/ oder vor Operationen eingesetzt werden, um Patienten mit potentiell erhöhtem Blutungsrisiko zu erfassen. Vor allem Patienten mit leichter Hämophilie könnten davon profitieren, da die postoperative Blutung mit 39% den Hauptgrund für die Diagnose der leichten HA darstellte. Bei den Patienten mit mittelschwerer HA waren es nur noch 25%.

Katsanis et al. entwickelten 1988 ein Epistaxis Scoring System, um anhand der Häufigkeit und der Dauer von Nasenbluten Kinder als „leicht“ oder „schwer“ einzustufen, wobei Kinder der Kategorie „schwer“ eher eine Koagulationsabnormalität aufwiesen [82]. Allerdings ist es laut Rodeghiero et al. äußerst fragwürdig, eine klinisch relevante Blutungskrankheit nur an einem einzigen Blutungssymptom festzumachen [83]. Um einen Blutungsfragebogen speziell zur Diagnose einer Hämophilie zu erstellen, sollten demnach alle bei dieser Erkrankung auftretenden Blutungssymptome sowie deren Häufigkeit und Schwere durch Befragung großer Kohorten von Patienten mit bereits etablierter Diagnose evaluiert werden. Zur quantitativen Erfassung der Blutungen wäre ein Blutungs-Punkte-System von Nutzen. Als Orientierung könnte das Drei-Punkte-System des vom Hospital for Sick Children entwickelten Fragebogens zur Diagnose eines vWS Typ1 dienen (0: keine / triviale Blutung, 1: Blutung präsent, 2: Blutung erforderte Beurteilung durch einen Arzt, aber keine Intervention, 3: Blutung erforderte ärztliche Intervention) oder das Punkte-System der MCMDM-1 vWD Studie, in welcher -1 hinzugefügt wurde, um auf die Abwesenheit einer Blutung trotz hämostatischer Herausforderung hinzuweisen, sowie der Grad 4, welcher für die dramatischste Präsentation einer Blutung stand (Notwendigkeit einer Bluttransfusion / eines operativen Eingriffs) [84].

Diese bisher verwendeten Beurteilungsmethoden von Blutungen weisen einige Limitationen auf. So werden z.B. Symptome, welche spezifisch bei Kindern auftreten (wie Blutungen beim Zahnwechsel) nicht erfasst. Um diese Limitationen zu beseitigen und eine Standardisierung der verfügbaren Beurteilungsmethoden zu erreichen, wurde von einer Arbeitsgruppe des ISTH/ SSC eine Beurteilungsmethode für Blutungen entwickelt, bestehend aus einem standardisierten Fragebogen sowie einem neuen Blutungs-Punkte-System. Diese neue Beurteilungsmethode ist für die Evaluierung angeborener Blutungskrankheiten bei Kindern und Erwachsenen vorgesehen. Allerdings muss das Blutungs-Punkte-System noch in zukünftigen Studien bezüglich seiner Validität und Zuverlässigkeit getestet werden [85].

Tabelle 23 zeigt einen Vorschlag für einen Blutungsfragebogen speziell zur Diagnose einer Hämophilie. An Blutungssymptomen sind diejenigen aufgeführt, welche in den Anamnesen angegeben waren bzw. wegen welchen die Klinik um medizinische Hilfe ersucht wurde. Als Vorlage diente das erwähnte Drei-Punkte-System.

<b>Blutungsanamnese</b>				
	Patient (ja/nein)	Mutter (ja/nein)	Vater (ja/nein)	Familie (ja/nein)
Kephalhämatom bei Geburt				
Blutung nach Punktion				
Neigung zu blauen Flecken				
• an mehr als einem Körperteil				
• an ungewöhnlichen Stellen				
• häufig große blaue Flecke				
• am Körperstamm				
• spontanes Auftreten				
	<b>Schweregrad der Blutung</b>			
	0	1	2	3
<b>Symptom</b>				
Epistaxis				
Blutung nach Zahnextraktion				
Blutung bei Zahnwechsel				
Blutung nach Verletzung				
Lippenbändchen-/				
Zungenbändchenblutung				
Muskelblutung nach Impfung				
Muskelblutung				
Gelenkblutung				
Nierenblutung				
GI Blutung				
Operation				
- Blutung nach Zirkumzision				
ZNS Blutung				

Tab. 23: Hämophilie - Blutungsanamnese

Zur Überprüfung der Sensitivität und Spezifität des Blutungs-Punkte-Systems ist sein Einsatz bei einer Kontrollgruppe mit gesunden Personen von Nöten, vor allem um die Relevanz für die Diagnose einer leichten Hämophilie zu überprüfen, da sich die Unterscheidung zwischen gesunden Personen und Personen mit leichter Hämophilie als schwierig erweisen könnte.

In der vorliegenden Studie z.B. waren nur bei 34% der Patienten mit leichter HA Angaben über klinische Auffälligkeiten wie häufiges Nasenbluten und Neigung zu blauen Flecken in der Erstanamnese zu finden. Allerdings wurde die Blutungsanamnese nicht systematisch mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens erhoben, da kein etablierter Fragebogen zur Verfügung stand, sondern individuell von

den verschiedenen Ärzten der Kinderklinik. Es kann gut sein, dass von manchen Ärzten nicht ausreichend nach klinischen Auffälligkeiten gefragt wurde und der Prozentsatz der Patienten mit klinisch auffälligen Symptomen weit größer ist. Auch darf nicht vergessen werden, dass die Blutungsanamnese subjektiv ist, was bedeutet, dass die Anzahl und Schwere der Symptome, über die ein Patient berichtet, von seiner Bildung, seinem familiären Hintergrund, seiner Persönlichkeit und seinem Erinnerungsvermögen beeinflusst werden. Zudem müssen gerade bei Kindern Blutungssymptome sorgfältiger erfasst werden, da sie mangels Gelegenheit nur wenige Manifestationen aufweisen können, die darüber hinaus bei einem Erwachsenen als trivial gelten [86]. Eine wiederholte Einschätzung bzw. eine erneute Fragebogentestung über die Zeit kann deshalb von Nöten sein. Allerdings wurde gezeigt, dass blaue Flecken und Nasenbluten auch bei gesunden Kindern relativ häufig angegeben werden (24% bzw. 39% von 228 untersuchten Kindern) [87].

Die allgemeine Blutungstendenz der Patienten mit leichter HA wurde mit dieser Studie nicht komplett erfasst, da nur die Blutungsepisoden betrachtet werden konnten, wegen derer die Klinik aufgesucht wurde. Jedoch hatten nur vier Patienten (11,4%, n=4/35) bisher keine Blutung erlitten und nur sieben Patienten (20%, n=7/35) keine substitutionspflichtige Blutung nach der Diagnosestellung. 41,2% der Patienten mit leichter Hämophilie suchten die Klinik wegen zwei oder mehr Blutungsepisoden auf, die substitutionspflichtig waren. Diese Daten legen nahe, dass bei einem Großteil dieser Patientengruppe die Prävalenz an Blutungssymptomen größer ist, als bis jetzt wahrgenommen.

#### **5.4 Diskussion der aPTT Werte**

Die Auswertung der gemessenen aPTT Werte zeigte in jeder Patientengruppe eine große Schwankungsbreite der Werte. So betrug die mediane Differenz zwischen dem niedrigsten und höchsten aPTT Wert für Patienten mit leichter HA 15 Sekunden, für Patienten mit mittelschwerer HA 18 Sekunden und für Patienten mit schwerer HA 23,5 Sekunden. Dies lässt sich auf verschiedene Ursachen zurückführen. So können schon während der Blutentnahme Fehler passieren, die sich auf die Länge der aPTT auswirken. Mögliche Fehlerquellen sind z.B. zu langes Stauen, Verwendung zu kleiner Kanülen oder Gerinnungsaktivierung durch Stochern. Auch wirken sich ein zu langer Transport oder eine Probenlagerung im Kühlschrank negativ aus [88]. Großen Einfluss haben ebenfalls die Testbedingungen, wobei die Einhaltung der Inkubationszeit, die Citrat-Plasma-Relation und der pH-Wert des Citrats besonders wichtig sind für die Richtigkeit der Messwerte. Eine weitere Rolle spielen die verwendeten Reagenzien. So kamen zur Ermittlung auswärts gemessener aPTT Werte eventuell andere aPTT Testkits zum Einsatz. Jedoch führen unterschiedliche aPTT Reagenzien in der Regel

nicht zum gleichen aPTT Wert, da sie sich sowohl hinsichtlich ihrer Oberflächenaktivatoren als auch bezüglich ihres Phospholipidgehalts unterscheiden. Als gerinnungsaktive Oberflächen finden Glas, Kaolin, Celit, Ellagsäure und Dextransulfat Verwendung. Faktoren, die die Wirkung der Phospholipide bestimmen, sind die Art des Phospholipids, Zusammensetzung und Konzentration der Phospholipide. Hinsichtlich der letzten beiden Punkte gibt es jedoch keinen allgemeinen Konsens [37].

Bowyer et al. untersuchten verschiedene aPTT Reagenzien bezüglich ihrer Fähigkeit, einen leichten Faktormangel zu erfassen, da die Sensitivität der Reagenzien für Faktormängel aufgrund ihrer Zusammensetzung variiert. Am sensitivsten erwies sich Synthasil (Instrumentation Laboratory Company), allerdings wurde es nicht mit dem im Dr. von Haunerschen Kinderspital verwendeten Pathrombin SL verglichen [89].

Daneben könnten noch Infekte, Impfungen und Schwankungen des FVIII (Akute-Phase-Protein) aufgrund von Stresssituationen wie Operationen und Entzündungen eine Rolle spielen [22].

Anhand der Daten wird der Einfluss der Normgrenze auf die Detektion einer leichten HA deutlich. Die obere Grenze des Referenzbereichs betrug im Dr. von Haunerschen Kinderspital 40 Sekunden, wobei 57% der Patienten mit leichter HA mit mindestens einem Wert in der Norm lagen. Bei Anhebung der Normgrenze auf 45 Sekunden stieg der Prozentsatz auf 77% und sogar Patienten mit einer mittelschweren HA lagen zu 28,6% mit einem Wert in der Norm. Diese Ergebnisse bestätigen die Forderung von Franchini et al., dass auch bei einer unauffälligen aPTT im Verdachtsfall eine Messung der FVIII Aktivität Pflicht ist [22].

### **5.5 Diskussion der FVIII Werte**

Auffällig waren auch die Schwankungen der gemessenen FVIII Aktivitäten, die bei den Patienten mit leichter HA am größten waren. Die mediane Differenz betrug 12%, bei den Patienten mit mittelschwerer HA 6% und bei Patienten mit schwerer HA 3%. Zum einen könnte das an der Verwendung des Einstufentests liegen, welcher eine höhere Variabilität im Intra- und Inter-Labor Vergleich aufweist als der Zweistufentest und die chromogene Substratmethode [78]. Zum anderen an der Rolle des FVIII als Akute-Phase-Protein. Da auch Werte verwendet wurden, die nicht aus der eigenen Klinik stammen, könnte der große Unterschied bei Patienten mit leichter HA aus der erwähnten Diskrepanz der Messmethoden resultieren. Zudem könnte das Phänomen der ansteigenden FVIII Aktivität mit zunehmendem Alter eine Rolle spielen [90]. Während des untersuchten Zeitraums wurde immer dieselbe Messmethode (Einstufentest) verwendet, allerdings kamen dabei verschiedene Geräte zum Einsatz.



Im Dr. von Haunerschen Kinderspital sind die FVIII Werte von früher glaubhaft und reproduzierbar, entsprechend der Erfahrung der langjährigen Leitung des Zentrums.

### **5.6 Diskussion der Ergebnisse der DNA Untersuchungen**

Die Analyse der Mutationen des FVIII Gens von 29 untersuchten Patienten mit leichter HA ergab, dass der leichten HA in 86,2% (n=25/29) der Fälle Missensemutationen und in 6,9% (n=2/29) der Fälle Spleißstellenmutationen zugrunde lagen. Bei zwei Patienten (6,9%, n=2/29) konnte trotz Komplettssequenzierung keine Veränderung im FVIII Gen gefunden werden. Insgesamt schätzt man, dass bei etwa 2% aller HA Patienten keine DNA Veränderungen auffindbar sind [29]. Bogdanova et al. aber schreiben, dass die Mutations-Detektionsrate vom Schweregrad der Hämophilie abhängt und bei Patienten mit schwerer HA 100% beträgt (nach Testung auf eine Intron-22 / Intron-1 Inversion, auf große Deletionen und nach genomischer Sequenzierung) [28]. Bei einem Patienten (von 44 untersuchten) mit schwerer HA des Dr. von Haunerschen Kinderspitals konnte jedoch trotz Komplettssequenzierung keine Mutation gefunden werden. Bei zwei weiteren war die Testung auf eine Inversion und große Deletion ergebnislos, allerdings wurde noch keine Komplettssequenzierung durchgeführt.

Die Mutations-Detektionsrate betrug für die Patienten mit leichter HA 93,1% und in der Studie von Bogdanova et al. (112 Patienten) 88%. Bei den Patienten des Dr. von Haunerschen Kinderspitals, die keine Mutation aufwiesen, ist eine Analyse der RNA geplant. Verdopplungen bestimmter Exons oder Spleißdefekte zeigen sich erst auf RNA Ebene, da nur die flankierenden Intron-Sequenzen untersucht werden und Mutationen, die die Spleißeffizienz beeinflussen, auch tiefer im Intron liegen können [28].

11 (44%) der 25 gefundenen Missensemutationen der Patienten mit leichter HA waren nicht in der Datenbank HAMSTeRS aufgeführt. Diese große Anzahl an neuen Mutationen kann daher rühren, dass der zuletzt aktualisierte Stand der Seite mit 6. August 2007 zum Abrufzeitpunkt (September 2010) angegeben war. Es ist anzunehmen, dass innerhalb der dazwischen liegenden drei Jahre viele weitere Mutationen entdeckt, aber nicht auf dieser Seite veröffentlicht wurden. Bedenkt man, dass der Faktor VIII aus einer Sequenz von 2.332 Aminosäuren besteht [27] und bei HAMSTeRS 705 verschiedene Missensemutationen veröffentlicht sind, die 30% der möglichen Mutationsstellen betreffen, ist es nicht undenkbar 11 neue Missensemutationen zu finden. Bei zwei der 27 gefundenen Punktmutationen handelte es sich um Spleißstellenmutationen, die in der Datenbank gar nicht geführt werden.

Die meisten der gefundenen Missensemutationen der Patienten mit leichter HA lagen in der A3 Domäne (26%) sowie in der C2 Domäne (20%) und A1 Domäne (20%). In der Studie von Bogdanova et al. dagegen waren sie vor allem in der A2 Domäne, C1

Domäne und in der A2/B Region zu finden. Ihre Forderung, den Start der Suche nach Punktmutationen auf diese Regionen bei Patienten mit leichter HA zu legen, kann unsere Studie nicht unterstützen. Allerdings war die uns zur Verfügung stehende Patientenanzahl weitaus geringer als die von Bogdanova. Weitere Studien an größeren Patientenkollektiven werden nötig sein, um zu klären, in welchen Domänen/ Exons bevorzugt Missensemutationen liegen, die eine leichte HA verursachen.

Insgesamt wurden weniger Patienten mit leichter HA genomisch untersucht (82,9%) als Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA (85,7% bzw. 95,7%). Um jedoch das Hemmkörperisiko besser abschätzen zu können, sollte bei allen Patienten eine DNA Analyse durchgeführt werden. Da bei bestimmten Missensemutationen das Risiko von normalerweise 5% auf bis zu 42% steigen kann [62], kann das Wissen um die ursächliche Mutation die Therapiestrategie beeinflussen. So wiesen zwei Patienten die Missensemutation Pro2300Leu auf, für die bei HAMSTeRS eine Hemmkörper Prävalenz von 29% angegeben ist. Bis zum Untersuchungszeitpunkt hatte noch keiner der Patienten mit leichter HA einen Hemmkörper entwickelt. Dies war wahrscheinlich altersbedingt, da Hemmkörper bei Patienten mit leichter HA bevorzugt zwischen dem 2. und 3. Lebensjahrzehnt auftreten und das mediane Alter dieser Patienten bei neun Jahren lag. Patienten mit hohem Risiko sollten, wenn möglich (bei kleinen Blutungen, über drei Jahren) DDAVP im Blutungsfall bekommen, ein intensiver FVIII Verbrauch ist zu vermeiden. Im besagten Lebensabschnitt sollten sie sich zumindest einmal jährlich zur Routineuntersuchung vorstellen, wo sie nach einer Änderung der Blutungshäufigkeit gefragt und die FVIII Aktivität überprüft werden sollte, um einen Hemmkörper so bald wie möglich zu entdecken. Für die Nicht-Risiko Patienten scheint die errechnete durchschnittliche jährliche Vorstellung von 0,94-mal ausreichend zu sein.

### **5.7 Diskussion der Gelenksituation**

Als Hauptproblem der leichten HA gilt die Gefahr, dass das Blutungsleiden nicht erkannt oder unterschätzt wird, sodass bedrohliche Blutungen aus dieser Vernachlässigung resultieren können. Ansonsten wird die leichte HA für ein mildes Blutungsübel gehalten, bei dem kaum noch Gelenkblutungen vorkommen und nicht wie bei der schweren HA mit einer möglichen Behinderung aufgrund wiederholter Gelenkblutungen gerechnet wird. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen ein anderes Bild. 40% der Patienten mit leichter HA haben im Untersuchungszeitraum mindestens eine Gelenkblutung erlitten, 6% entwickelten eine Hämophiliearthropathie und 3% unterzogen sich deswegen einem operativen Eingriff. Von 122 Blutungsepisoden, wegen welcher das Dr. von Haunersche Kinderspital aufgesucht wurde, machten Gelenkblutungen mit 34% den Hauptanteil aus, gefolgt von Weichteil- und

Muskelblutungen (21% bzw. 16%). Auf ähnliche Prozentwerte kamen Venkateswaran et al., die bei 55 Patienten mit leichter Hämophilie (18,2% mit FIX Mangel) das Auftreten von Blutungen im Zeitraum von 1977 bis 1996 untersuchten. Von 190 Blutungsepisoden betrafen 30% Gelenke und 52% Muskulatur oder Weichgewebe [38]. Da das mediane Alter der Patienten mit leichter HA in unserer Studie 13 Jahre betrug und der älteste Patient 24 Jahre alt war, ist zu vermuten, dass Patienten mit leichter HA im Erwachsenenalter zu einem größeren Prozentsatz Hämophiliearthropathien aufweisen. Im Vergleich zu Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA traten die ersten Gelenkblutungen bei Patienten mit leichter HA um einiges später auf (vgl. 4.5.3), sodass auch mit Folgeerscheinungen zu einem späteren Zeitpunkt zu rechnen ist. Diese Vermutung wird von einer Studie von Walsh et al. bestärkt, in welcher 47 Männer mit leichter HA und einem durchschnittlichen Alter von 46 Jahren mit 33 Kontrollpersonen mit Hilfe des Short-Form 36 Fragebogens (SF-36) hinsichtlich der gesundheitsbezogenen Lebensqualität verglichen wurden [41]. In der Studie wird berichtet, dass in der Provinz Neufundland und Labrador in Kanada die Prävalenz für leichte HA aufgrund eines founder effect ungewöhnlich hoch sei und klinische Erfahrungen mit dieser Population auf signifikante Probleme hinsichtlich Blutungen und muskuloskelettalen Dysfunktionen hinweisen würden, über welche früher in der Literatur über Erwachsene mit leichter HA nicht berichtet worden wäre. Diese Erfahrungen wurden durch die Studie bestätigt, da aus den Ergebnissen hervorging, dass die leichte HA mit einem negativen Effekt auf die physische gesundheitsbezogene Lebensqualität verbunden war, wozu Gelenkschäden aufgrund früherer Einblutungen beigetragen haben.

Weitere Studien müssen durchgeführt werden, um den tatsächlichen Einfluss der leichten HA auf den Zustand der Muskulatur und Gelenke im Laufe des Lebens feststellen zu können. Die Ergebnisse dieser Studie weisen auf eine zu harmlose Einschätzung der Erkrankung hin.

## **5.8 Vorschläge zur Therapieverbesserung**

Durchschnittlich warteten Patienten mit leichter HA 2,6 Tage bis sie nach dem Auftreten einer Blutung in die Klinik kamen. Im Vergleich zu Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA war das deutlich später (1,2 bzw. 1,4 Tage). Wichtig ist es jedoch, im Falle einer Blutung sofort zu handeln, vor allem bei Gelenkblutungen, um Schmerzen und Schäden zu vermeiden. Grund für Verzögerungen könnte eine zu geringe Kenntnis von Blutungssymptomen und therapeutischen ersten Schritten sein. Eltern sollten deswegen genau darüber informiert werden, wie sich Blutungen bemerkbar machen z.B. durch Schwellung, Erwärmung, Schmerzen etc., da es wichtig ist, dass diese Anzeichen bei Kindern nicht übersehen werden. Da der

Faktorverbrauch in den ersten Schuljahren bei den Patienten mit leichter HA erhöht war, sollte in diesem Zeitabschnitt von den Eltern vermehrt auf Blutungssymptome geachtet werden.

Zu empfehlen ist auch für Eltern von Patienten mit leichter HA bzw. später für die Patienten selber, die Teilnahme an Schulungen zur Heimselbstbehandlung, um den Faktor selbständig spritzen zu können. Patienten bzw. deren Eltern sollten darauf hingewiesen werden, den Faktor zu spritzen, sobald die ersten Zeichen einer Blutung verspürt werden, auch bei bloßem Verdacht auf eine Blutung. Da ab dem Beginn des Berufslebens der Faktorverbrauch stieg, sollten die Jugendlichen gezielt zu diesen Zeitpunkten nochmals darüber informiert werden.

Zur Prävention von Gelenkschäden sollte den Patienten mit leichter HA zu regelmäßigem Training geraten werden, da Sport die Muskulatur stärkt und die körperliche Koordinationsfähigkeit fördert. Durch eine starke Muskulatur und eine gute motorische Koordinationsfähigkeit werden Gelenke stabilisiert und geschützt. Generell sollten die Patienten auf einen schonenden Einsatz der Gelenke achten sowie auf eine gesunde Ernährung, um Übergewicht zu vermeiden [12].

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Die Hämophilie, welche X-chromosomal rezessiv vererbt wird, stellt die zweithäufigste angeborene Blutgerinnungsstörung dar. Den Hauptanteil mit 85% macht die Hämophilie A (HA), auch als klassische Hämophilie bezeichnet, aus, die durch einen Mangel des Gerinnungsfaktors FVIII gekennzeichnet ist.

Ungefähr 16 bis 54% der Patienten mit einer HA haben eine leichte HA, definiert durch eine Restfaktoraktivität von  $> 5$  bis zu 40%. Im Gegensatz zu Personen mit schwerer HA, welche an häufigen, spontanen Blutungen leiden, wird die Diagnose bei Personen mit leichter HA oft erst im Rahmen von Traumata und Operationen gestellt. Bisher erhielten Patienten mit leichter Hämophilie nicht denselben Grad an medizinischer Aufmerksamkeit wie die schwereren Formen, so dass man bei der leichten Hämophilie von einer vernachlässigten Diagnose sprechen kann. Diagnoseverzögerungen können jedoch zu enormem Blutverlust und schwerer Morbidität führen. Erschwert wird die Diagnose auch durch die Limitationen der Labortests. Daher ist es nicht erstaunlich, dass Patienten mit leichter HA aufgrund unbehandelter oder zu spät erkannter Gelenkblutungen schwere Arthropathien entwickeln können, die sogar operationsbedürftig sind.

Ziel dieser retrospektiven Studie ist es, mit Hilfe gesammelter Daten, die Diagnose und Therapie für zukünftige Patienten mit leichter HA zu verbessern und dadurch die Komplikationsrate zu reduzieren.

Dazu wurden die Daten von 35 Patienten mit leichter HA, bei denen die Erkrankung im Zeitraum von 1985 bis 2008 diagnostiziert worden war, ausgewertet und mit den Daten von sieben Patienten mit mittelschwerer HA und von 46 Patienten mit schwerer HA verglichen.

83% der Patienten mit leichter HA waren genetisch untersucht worden. Dabei wurden 13 neue Punktmutationen gefunden. Insgesamt traten die 27 entdeckten Mutationen vor allem in der A3, C2 und A1 Domäne auf. Drei Patienten hatten Mutationen, von denen bekannt ist, dass sie bei Verwendung verschiedener Methoden zur Bestimmung der FVIII Aktivität unterschiedliche Ergebnisse hervorrufen. Zwei Patienten wiesen Mutationen auf, die mit einem höheren Hemmkörperisiko verbunden sind.

Für die Diagnose zeigte sich vor allem für Patienten mit leichter HA eine positive Familienanamnese von Bedeutung, da sie dadurch im Median 22,5 Monate früher gestellt werden konnte. Bei den Patienten mit mittelschwerer und schwerer HA führte eine positive Familienanamnese dagegen nur zu einer um 5 Monate bzw. 8 Monate früheren Diagnose. Trotz positiver Familienanamnese stellten sich 18% der Patienten mit leichter HA erst wegen eines Blutungsereignisses zur diagnostischen Abklärung

vor. Das häufigste Blutungsereignis, welches zur Diagnose führte, war mit 39% die postoperative Blutung.

11,4% der Patienten hatten im Untersuchungszeitraum (1985 – 2009) keine Blutung erlitten, 20% mussten nicht mit einem Faktorkonzentrat substituiert werden. Dagegen kamen 41% wegen zwei oder mehr substitutionspflichtigen Blutungsepisoden in das Dr. von Haunersche Kinderspital, Hauptgrund waren zu 34% Gelenkblutungen. Insgesamt hatten 40% mindestens eine Gelenkblutung erfahren, 6% entwickelten sogar eine Hämophiliearthropathie und 3% unterzogen sich deswegen einem operativen Eingriff.

Patienten mit leichter HA warteten im Blutungsfall länger als Patienten mit mittelschwerer oder schwerer HA bis sie um medizinische Hilfe ersuchten, im Durchschnitt 2,6 Tage nach Auftreten einer Blutung.

Bei den Patienten mit leichter und mittelschwerer HA war der Faktorverbrauch in den ersten Schuljahren erhöht. Patienten mit schwerer HA und Bedarfs-Therapie verbrauchten dagegen Ende der Pubertät am meisten FVIII. Patienten mit schwerer HA starteten im 2. Lebensjahr massiv mit der Prophylaxe, wobei sich ab dem 17. Lebensjahr eine abnehmende Tendenz abzeichnete. Bei Patienten mit mittelschwerer HA war eine Prophylaxe erst ab Beginn der Schulzeit nötig. Der Verbrauch sank bei ihnen ab dem 13. Lebensjahr leicht ab. Dagegen war bei den Patienten mit leichter HA ab dem Beginn des Berufslebens ein erneuter Anstieg des Faktorverbrauchs zu beobachten.

Mit diesen umfassende Daten zur leichten HA - im Gegensatz zur bisher vorhandenen und eher alten Literatur, die hauptsächlich aus Fallberichten besteht – konnten konkrete Forderungen erstellt werden.

Um die Diagnose für Personen mit leichter HA zu verbessern, legen die Ergebnisse dieser Studie nahe, dass nicht nur vom Pädiater im ersten Lebensjahr eine ausführliche Familienanamnese bezüglich Blutungen erhoben werden sollte, sondern dass bereits der Gynäkologe im Rahmen der Schwangerschaftsbetreuung eindeutig die Blutungsanamnese der Mutter sowie deren Familie erfragen sollte. Bei Neugeborenen mit bekannter familiärer Hämophilie sollte grundsätzlich eine Gerinnungsabklärung erfolgen, auch wenn bereits eine pränatale Genanalyse erfolgt ist. Eine genaue Aufklärung der Betroffenen über den Erbgang ist notwendig.

Die Entwicklung eines Blutungsfragebogens - speziell ausgerichtet auf die Hämophilie - zur Erfassung von Personen mit erhöhtem Blutungsrisiko wäre vor allem für Patienten mit leichter Hämophilie von Nutzen, wenn dadurch die Diagnose vor Operationen gestellt werden könnte.

Aus therapeutischer Sicht sollten alle Patienten mit leichter HA genetisch untersucht werden, um Patienten mit einem höheren Hemmkörperisiko zu identifizieren.

Schulungen zur Heimselbstbehandlung sollten empfohlen werden.

Obwohl die leichte HA als mildes Blutungsübel gilt, zeigt die hohe Zahl an Komplikationen, an postoperativen Blutungen und Hämophiliearthropathien, dass dieser Patientengruppe noch nicht die notwendige Beachtung und Behandlung zuteil wird.

Größere internationale Studien müssen zeigen, ob nicht auch Patienten mit leichter HA von einer intensivierten Therapie profitieren.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Hiller, E., Riess, H. (2002). Hämorrhagische Diathese und Thrombose. Grundlagen, Klinik, Therapie; ein praxisbezogener Leitfaden für Ärzte und Studierende. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges.
2. Kemkes-Matthes, B., Oehler, G. (2001). Blutgerinnung und Thrombose. Stuttgart: Thieme.
3. Andrew, M. (1991). An approach to the management of infants with impaired haemostasis. *Baillieres Clin Haematol*, 4, 251 - 289.
4. Mann, K., Krishnaswamy, J.L. (1992). Surface-dependent hemostasis. *Semin Hematol*, 29, 213 - 226.
5. Ahmad, S., Rawala-Sheikh, R. , Walsh, P. (1992). Components and assembly of the factor X activating complex. *Semin Thromb Haemost*, 18, 311 - 323.
6. Mann, K., Brummel Ziedins, K. (2005). Overview of hemostasis, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S. 1-4). Malden: Blackwell Publishing.
7. Schneppenheim, R. (2004). Hämophilie und von Willebrand-Syndrom. Diagnostik und Therapie. Liederbach: Aventis Behring .
8. Bundesärztekammer (2008). Querschnitts - Leitlinien (BÄK) zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten. <http://www.bundesaerztekammer.de>. (1.8.2010)
9. Müller-Berghaus, G. (1999). Hämostaseologie. Molekulare und zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie und Klinik. Berlin: Springer.
10. Saenko, E.L., Ananyeva, N. (2005). Hemophilia A: role of factor VIII in coagulation, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S.27-33). Malden: Blackwell Publishing.
11. Neumann, H.A. (2008). Das Gerinnungssystem. Physiologie und Pathophysiologie; eine Einführung. Berlin: ABW, Wiss.-Verl.
12. von Depka Prondzinski, M., Kurnik, K. (2008). Hämophilie. Ein Leitfaden für Patienten. Stuttgart: Trias Verlag.
13. White II, G., et al. (2001). Recommendation of the scientific subcommittee on factor VIII and factor IX of the scientific and standardization committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost*, 85, 560.
14. Schulman, S. (2006). Mild Hemophilia. Treatment of Hemophilia. <http://www.wfh.org/index.asp?lang=EN>. (2.4.2010)
15. Kurnik, K., Bidlingmaier, C. (2008). Gerinnungsstörungen im Kindesalter. Diagnostik und Therapie. Stuttgart: Ligatur Verlag.



16. Wahlberg, T., Blomback, M., Brodin, U. (1982). Carriers and noncarriers of haemophilia A: I. Multivariate analysis of pedigree data, screening blood coagulation tests and factor VIII variables. *Thromb Res*, 25 (5), 401-414.
17. Mauser, B., et al. (1988). Bleeding symptoms in carriers of hemophilia A and B. *Thromb Haemost*, 59, 349-352.
18. Plug, I., et al. (2006). Bleeding in carriers of hemophilia. *Blood*, 108 (1), 52-56.
19. World Federation of Hemophilia (2010). <http://www.wfh.org/index.asp?lang=EN>. (15.6.2010)
20. Stonebraker, J.S., et al. (2010). A study of variations in the reported haemophilia A prevalence around the world. *Haemophilia*, 16 (1), 20-32.
21. Schramm, W., Krebs, H. (2010). Haemophilia patients in Germany 2008/2009. Morbidity and mortality. *Hamostaseologie*, 30 (1), 9-14.
22. Franchini, M., Favaloro, E.J., Lippi, G. (2010). Mild hemophilia A. *J Thromb Haemost*, 8 (3), 421-432.
23. Poon, M.C., Luke, K.H. (2008). Haemophilia care in China: achievements of a decade of World Federation of Hemophilia treatment centre twinning activities. *Haemophilia*, 14 (5), 879-88.
24. Iorio, A., et al. (2008). Italian Registry of Haemophilia and Allied Disorders. Objectives, methodology and data analysis. *Haemophilia*, 14 (3), 444-453.
25. Scholz, U., et al. (2008). Patienten mit Hämophilie A, B oder von-Willebrand-Syndrom Typ 3. Systematische Erfassung im Osten Deutschlands. *Hämostaseologie*, 28, 150-154.
26. Geraghty, S., et al. (2006). Practice patterns in haemophilia A therapy - global progress towards optimal care. *Haemophilia*, 12 (1), 75-81.
27. Kemball-Cook, G., Tudelenham, E. (2005). Molecular basis of hemophilia A, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of hemophilia* (S.19-26). Malden: Blackwell Publishing.
28. Bogdanova, N., et al. (2007). Spectrum of molecular defects and mutation detection rate in patients with mild and moderate hemophilia A. *Hum Mutat*, 28 (1), 54-60.
29. El-Maarri, O., et al. (2005). Analysis of mRNA in hemophilia A patients with undetectable mutations reveals normal splicing in the factor VIII gene. *J Thromb Haemost*, 3 (2), 332-339.
30. El-Maarri, O., et al. (2008). Investigation of Underlying Reasons of Factor VIII Deficiency in Hemophilia A Patients with Undetectable Mutations in the F8 Gen, In I. Scharrer, W. Schramm (Hrsg.), *37th Hemophilia Symposium Hamburg 2006* (S. 109-113). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

31. Brummel-Ziedins, K.E., et al. (2009). Thrombin generation and bleeding in haemophilia A. *Haemophilia*, 15 (5), 1118-1125.
32. Ljung, R., et al. (2008). Haemophilia in the first years of life. *Haemophilia*, 14 (3), 188-195.
33. Kurnik, K., et al. (2007). Effects of the factor V G1691A mutation and the factor II G20210A variant on the clinical expression of severe hemophilia A in children--results of a multicenter studys. *Haematologica*, 92 (7), 982-985.
34. Lopez-Jimenez, J.J., et al. (2009). Clinical variability of haemophilia A and B in Mexican families by factor V Leiden G1691A, prothrombin G20210A and MTHFR C677T/A1298C. *Haemophilia*, 15 (6), 1342-1345.
35. Nowak-Gottl, U., et al. (2003). Haemophilia and thrombophilia. What do we learn about combined inheritance of both genetic variations? *Hamostaseologie*, 23 (1), 36-40.
36. Shetty, S., et al. (2007). Contribution of natural anticoagulant and fibrinolytic factors in modulating the clinical severity of haemophilia patients. *Br J Haematol*, 138 (4), 541-544.
37. Barthels, M., von Depka Prondzinski, M. (2003). *Das Gerinnungskompendium. Schnellorientierung, Befundinterpretation, klinische Konsequenzen*. Stuttgart: Thieme.
38. Venkateswaran, L., et al. (1998). Mild hemophilia in children: prevalence, complications, and treatment. *J Pediatr Hematol Oncol*, 20 (1), 32-35.
39. Pappas, A.M., et al. (1964). The Problem of unrecognized "Mild Hemophilia". Survival of a patient after Disarticulation of the Hip. *JAMA*, 187, 772-774.
40. Goodyear, D., Scully, M.F., Kawaja, M. (2005). Delayed treatment of bleeding in patients with mild hemophilia can very significantly affect overall need for therapy. *Blood*, 106 (11), 4049.
41. Walsh, M., et al. (2008). Health-related quality of life in a cohort of adult patients with mild hemophilia A. *J Thromb Haemost*, 6 (5), 755-761.
42. Keeling, D.M., et al. (1999). Diagnostic importance of the two-stage factor VIII:C assay demonstrated by a case of mild haemophilia associated with His1954-->Leu substitution in the factor VIII A3 domain. *Br J Haematol*, 105 (4), 1123-1126.
43. Mumford, A.D., et al. (2002). A Tyr346-->Cys substitution in the interdomain acidic region a1 of factor VIII in an individual with factor VIII:C assay discrepancy. *Br J Haematol*, 118 (2), 589-594.
44. Jacquemin, M., et al. (2003). Molecular mechanisms of mild and moderate hemophilia A. *J Thromb Haemost*, 1 (3), 456-463.

45. Cid, A.R., et al. (2008). One-stage and chromogenic FVIII:C assay discrepancy in mild haemophilia A and the relationship with the mutation and bleeding phenotype. *Haemophilia*, 14 (5), 1049-1054.
46. Begbie, M., et al. (2000). The Factor VIII acute phase response requires the participation of NFkappaB and C/EBP. *Thromb Haemost*, 84 (2), 216-222.
47. Favaloro, E.J., et al. (2005). Cross-laboratory audit of normal reference ranges and assessment of ABO blood group, gender and age on detected levels of plasma coagulation factors. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 16 (8), 597-605.
48. Escobar, M. (2005). Products used to treat hemophilia: dosing, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S.153-157). Malden: Blackwell Publishing.
49. World Health Organization (1994). Report of a joint WHO/ WFH meeting on the control of Haemophilia: Modern treatment of Haemophilia. [http://whqlibdoc.who.int/hq/1994/WHO\\_HDP\\_WFH\\_94.6.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1994/WHO_HDP_WFH_94.6.pdf). (13.10.2010)
50. Astermark, J. (2003). When to start and when to stop primary prophylaxis in patients with severe haemophilia. *Haemophilia*, 9 (1), 32-37.
51. Manco-Johnson, M.J., et al. (2007). Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *N Engl J Med*, 357 (6), 535-544.
52. Castaman, G., et al. (2008). Patients with mild hemophilia A and no detectable FVIII mutation have poorer response to desmopressin. *Haemophilia*, 14, 63.
53. Wenzel, E. (1985). Rationelle Therapie und Diagnose von hämorrhagischen und thrombophilen Diathesen. Verhandlungsbericht d. 29. Tagung d. Dt. Arbeitsgemeinschaft für Blutgerinnungsforschung in Saarbrücken, Febr. 1985. Stuttgart: Schattauer.
54. White II, G., Samulski, R. (2005). Gene therapy: introduction and overview, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S.214-219). Malden: Blackwell Publishing.
55. White II, G., Monahan, P. (2005). Gene therapy for hemophilia A, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S. 226-228). Malden: Blackwell Publishing.
56. Lillicrap, D. (2005). Gene therapy: molecular engineering of factor VIII and factor IX, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S.229-234). Malden: Blackwell Publishing.
57. Kurnik, K., et al. (2010). New early prophylaxis regimen that avoids immunological danger signals can reduce FVIII inhibitor development. *Haemophilia*, 16 (2), 256-262.

58. Peerlinck, K., Jaquemin, M. (2005). Inhibitors of factor VIII - mild and moderate hemophilia, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), Textbook of Hemophilia (S.71-73). Malden: Blackwell Publishing.
59. Hay, C.R. (1998). Factor VIII inhibitors in mild and moderate-severity haemophilia A. Haemophilia, 4 (4), 558-563.
60. White, B., et al. (2000). High responding factor VIII inhibitors in mild haemophilia - is there a link with recent changes in clinical practice? Haemophilia, 6 (2), 113-115.
61. D'Oiron, R., Mhai Study, G. (2008). Prevention and treatment of inhibitor development in mild/moderate hemophilia A (MHA) patients. Haemophilia, 14, 63.
62. Oldenburg, J., Pavlova, A. (2006). Genetic risk factors for inhibitors to factors VIII and IX. Haemophilia, 12, 15-22.
63. Lusher, J. (2005). Natural history of inhibitor development in children with severe hemophilia A treated with factor VIII products, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), Textbook of Hemophilia (S. 34-38). Malden: Blackwell Publishing.
64. Mejia-Carvajal, C., Czapek, E.E., Valentino, L.A. (2006). Life expectancy in hemophilia outcome. J Thromb Haemost, 4 (3), 507-509.
65. Scharrer, I., Becker, T. (2005). Products used to treat hemophilia: evolution of treatment for hemophilia A and B, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), Textbook of Hemophilia (S. 131-135). Malden: Blackwell Publishing.
66. Evatt, B., Black, C. (2005). Comprehensive care and delivery of care: the global perspective, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), Textbook of Hemophilia (S. 371-377). Malden: Blackwell Publishing.
67. Reitter, S., et al. (2009). Survival in a cohort of patients with haemophilia at the haemophilia care center in Vienna, Austria, from 1983 to 2006. Haemophilia, 15 (4), 888-893.
68. Rarngren, O. (1962). A clinical and medico-social study of haemophilia in Sweden. Acta Med Scand, 171, 111-190.
69. Larsson, S. (1984). Hemophilia in Sweden. Studies on demography of hemophilia and surgery in hemophilia and von Willebrand's disease. Acta Med Scand, 684, 1-72.
70. Plug, I., et al. (2006). Mortality and causes of death in patients with hemophilia, 1992-2001: a prospective cohort study. J Thromb Haemost, 4 (3), 510-6.
71. Diamondstone, L.S., Aledort, L.M., Goedert, J.J. (2002). Factors predictive of death among HIV-uninfected persons with haemophilia and other congenital coagulation disorders. Haemophilia, 8 (5), 660-667.

72. Asaf, T., et al. (2001). The need for routine pre-operative coagulation screening tests (prothrombin time PT/partial thromboplastin time PTT) for healthy children undergoing elective tonsillectomy and/or adenoidectomy. *Int J Otorhinolaryngol*, (61), 217-222.
73. Howells, R.C., Wax, M.K., Ramadan, H.H. (1997). Value of preoperative prothrombin time/partial thromboplastin time as a predictor of postoperative hemorrhage in pediatric patients undergoing tonsillectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 117, 628-632.
74. Coppola, A., Di Capua, M., De Simone, C. (2008). Primary prophylaxis in children with haemophilia. *Blood Transfus*, 6 (2), 4-11.
75. Preston, F.E., et al. (2004). SSC/ISTH classification of hemophilia A: can hemophilia center laboratories achieve the new criteria? *J Thromb Haemost*, 2 (2), 271-274.
76. Poulsen, A.L., et al. (2009). Assay discrepancy in mild haemophilia A: entire population study in a National Haemophilia Centre. *Haemophilia*, 15 (1), 285-289.
77. Rodgers, S.E., et al. (2007). In vitro kinetics of factor VIII activity in patients with mild haemophilia A and a discrepancy between one-stage and two-stage factor VIII assay results. *Br J Haematol*, 136 (1), 138-145.
78. Peetz, D. (2007). Factor VIII Methods: Which Assay Principle for which Indication?, In I. Scharrer, W. Schramm (Hrsg.), 36th Hemophilia Symposium Hamburg 2005 (S.71-74). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
79. Nair, S.C., et al. (2010). Tests of global haemostasis and their applications in bleeding disorders. *Haemophilia*, 16 (5), 85-92.
80. Trossaert, M., et al. (2008). Mild hemophilia A with factor VIII assay discrepancy: using thrombin generation assay to assess the bleeding phenotype. *J Thromb Haemost*, 6 (3), 486-493.
81. Blanchette, V., Kahr, W. (2005). Work-up of a bleeding child, In C. Lee, E. Berntorp, W. Keith (Hrsg.), *Textbook of Hemophilia* (S. 112-119). Malden: Blackwell Publishing.
82. Katsanis, E., et al. (1988). Prevalence and significance of mild bleeding disorders in children with recurrent epistaxis. *J Pediatr*, 113, 73-76.
83. Rodeghiero, F., et al. (2008). Relevance of quantitative assessment of bleeding in haemorrhagic disorders. *Haemophilia*, 14 (3), 68-75.
84. Tosetto, A., Castaman, G., Rodeghiero, F. (2008). Bleeding scores in inherited bleeding disorders: clinical or research tools? *Haemophilia*, 14 (3), 415-422.

85. Rodeghiero, F., et al. (2010). ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost*, 8 (9), 2063-2065.
86. Rodeghiero, F., Tosetto, A., Castaman, G. (2007). How to estimate bleeding risk in mild bleeding disorders. *J Thromb Haemost*, 5 (1), 157-166.
87. Nosek-Cenkowska, B., et al. (1991). Bleeding/bruising symptomatology in children with and without bleeding disorders. *Thromb Haemost*, 65 (3), 237-241.
88. Bergmann, F. (2003). *Rationelle Diagnostik bei Blutungsneigung. Pädiatrie hautnah*. Berlin: Springer Verlag.
89. Bowyer, A., Kitchen, S., Makris, M. (2011). The responsiveness of different APTT reagents to mild factor VIII, IX and XI deficiencies. *Int J Lab Hematol*, 33 (2), 154-158.
90. Miesbach, W., et al. (2009). Age-dependent increase of FVIII:C in mild haemophilia A. *Haemophilia*, 15 (5), 1022-1026.

## 8. Anhang

### 8.1 Abkürzungen

ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrom
APC	aktiviertes Protein C
APH	Alkalische Phosphatase
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
BÄK	Bundesärztekammer
BSP	Bruttosozialprodukt
Ca <sup>++</sup>	Calcium
DDAVP	1-Desamino-8-D-Arginin-Vasopressin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FEIBA	Factor-Eight-Bypassing-Activity
F V, VII, VIII, IX, X	Faktor V, VII, VIII, IX, X
FVIII:Ag	antigene Determinanten des Faktor VIII
Gamma-GT	Gamma-Glutamyltranspeptidase
GOT	Glutamat-Oxalat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HA	Hämophilie A
HAMSTeRS	Haemophilia A Mutation, Structure, Test and Resource Site
HB	Hämophilie B
HBZ	Hämophiliebehandlungszentren
HCV	Hepatitis C Virus
HDL	High density lipoprotein
HIV	Human Immundeficiency Virus
I.E.	Internationale Einheiten
ISTH	International Society on Thrombosis and Haemostasis
I.U.	International Units
i.v.	intravenös
KG	Körpergewicht
LA	Lupusantikoagulanzen
LDL	Low density lipoprotein
LI	Lupusinhibitor
Lp(a)	Lipoprotein (a)
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MTHFR	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
pd	plasma-derived
PL	Phospholipide
Quick	Thromboplastinzeit
r	rekombinant
SA	Standardabweichung
SG	Sprunggelenk
SSC	Scientific and Standardization Committee
TF	tissue factor
TFPI	tissue factor pathway inhibitor
vWF	von-Willebrand-Faktor
vWS	von-Willebrand-Syndrom
WFH	World Federation of Hemophilia
WHO	World Health Organization

## 8.2 Abbildungen

Seite

Abb. 1	Intrinsisches und extrinsisches System sowie gemeinsame Endstrecke .....	3
Abb. 2	Xase- und Prothrombinasekomplex .....	5
Abb. 3	Beispiel für den Vererbungsmodus bei Hämophilie .....	8
Abb. 4	FVIII .....	10
Abb. 5	Genstruktur und Proteinstruktur des FVIII .....	11
Abb. 6	Klinisches Bild einer zu spät behandelten Gelenkblutung .....	15
Abb. 7	Die Bestimmung der partiellen Thromboplastinzeit .....	16
Abb. 8	Grund für Diagnose .....	31
Abb. 9	Diagnosegrund Blutung – Gruppe „Leicht“ .....	32
Abb. 10	Diagnosegrund Blutung – Gruppe „Mittel“ .....	33
Abb. 11	Diagnosegrund Blutung - Gruppe „Schwer“ .....	33
Abb. 12	Diagnosegrund Blutung - Traumatisch oder Spontan .....	34
Abb. 13	Rolle der Familienanamnese bei der Diagnose .....	35
Abb. 14	Kaplan-Meier-Kurve: Diagnosestellung .....	36
Abb. 15	Alter bei Diagnose in Abhängigkeit vom Vorstellungsgrund .....	36
Abb. 16	Operationen .....	37
Abb. 17	Erste, niedrigste und höchste aPTT (Sekunden) .....	38
Abb. 18	FVIII Aktivität (%) im Verlauf .....	40
Abb. 19	Familiäre Belastung .....	45
Abb. 20	Alter bei erster Blutung .....	46
Abb. 21	Kaplan-Meier-Kurve: Auftreten der ersten Blutung .....	47
Abb. 22	Art der ersten Blutung .....	48
Abb. 23	Alter bei erster Substitution .....	48
Abb. 24	Kaplan-Meier-Kurve: Erste Substitution .....	49
Abb. 25	Ursachen für erste Substitution .....	50
Abb. 26	Patienten mit Gelenkblutung .....	50
Abb. 27	Alter bei erster Gelenkblutung .....	51
Abb. 28	Kaplan-Meier-Kurve: Erste Gelenkblutung .....	52
Abb. 29	Patienten mit Hämophiliearthropathie .....	52
Abb. 30	Alter bei Diagnose einer Hämophiliearthropathie .....	53
Abb. 31	Alter bei Diagnose einer Hämophiliearthropathie – Therapieformen .....	53
Abb. 32	Hämophiliearthropathie in Abhängigkeit der Therapieform .....	54
Abb. 33	Von einer Hämophiliearthropathie betroffene Gelenke .....	55
Abb. 34	Substitutionsschema .....	56
Abb. 35	Alter bei Prophylaxebeginn .....	57
Abb. 36	FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Leicht“ .....	58



Abb. 37	FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Mittel“ .....	58
Abb. 38	FVIII-Verbrauch pro Jahr – Gruppe „Schwer“ .....	59
Abb. 39	FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Leicht“ .....	60
Abb. 40	FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Mittel“ .....	61
Abb. 41	FVIII-Verbrauch in Abhängigkeit vom Alter – Gruppe „Schwer“ .....	62
Abb. 42	Durchschnittliche jährliche Vorstellung.....	62
Abb. 43	Klinikbesuche wegen Blutungen – Trauma vs. Spontan.....	64
Abb. 44	Klinikbesuche - Häufigkeit der Blutungsarten.....	65
Abb. 45	Häufigkeit prothrombotischer Risikofaktoren.....	66

## 8.3 Tabellen

Seite

Tab. 1	Gerinnungsfaktoren .....	2
Tab. 2	Hämophilie-Klassifizierung der ISTH.....	6
Tab. 3	Epidemiologie der Leichten HA .....	9
Tab. 4	Mutationen bei HAMSTeRS .....	12
Tab. 5	Anstieg der Lebenserwartung (von HIV und HCV negativen Patienten) .....	22
Tab. 6	Untersuchte Gesichtspunkte.....	24
Tab. 7	Hämophilie-Klassifizierung der BÄK.....	25
Tab. 8	Daten der Patientengruppen .....	26
Tab. 9	Daten der Gruppen „Sub“ und „Mild“ .....	26
Tab. 10	Diagnosegrund der Gruppe „Leicht“, aufgeteilt in „Sub“ und „Mild“ .....	31
Tab. 11	Anamneseangaben der Patienten mit Nachblutung .....	34
Tab. 12	FVIII - Mutationen .....	41
Tab. 13	Vergleich der Mutationen der Gruppe „Leicht“ mit HAMSTeRS .....	43
Tab. 14	Vergleich der Mutationen der Gruppe „Mittel“ mit HAMSTeRS .....	44
Tab. 15	Vergleich der Mutationen der Gruppe „Schwer“ mit HAMSTeRS .....	44
Tab. 16	Vergleich der Gruppen „Mild“ und „Sub“ .....	55
Tab. 17	Grund für Klinikbesuche .....	63
Tab. 18	Grund für Klinikbesuche – Gruppe „Leicht“ .....	63
Tab. 19	Blutungsepisoden .....	64
Tab. 20	Daten der Patienten mit thrombotischen Risikofaktoren - Gruppe „Leicht“ .	66
Tab. 21	Daten des Patienten mit ADHS .....	67
Tab. 22	Daten der Patienten mit vWS .....	67
Tab. 23	Hämophilie – Blutungsanamnese.....	73

## 9. Danksagung

Frau PD Dr. Karin Kurnik danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die prompte Beantwortung auftretender Fragen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Christoph Bidlingmaier für die Bereitstellung wichtiger und interessanter Literatur sowie für die ausgezeichnete Betreuung meiner Dissertation. Trotz Elternzeit stand er mir in allen Phasen der Arbeit hilfreich zur Seite.

Des Weiteren möchte ich mich bei Schwester Susan bedanken, vor allem für ihren Einsatz bei der Suche nach Akten.

Herrn Prof. Budde in Hamburg danke ich für die Unterstützung bei der Diagnostik des von-Willebrand-Syndroms. Dem Institut für Humangenetik in Würzburg gilt mein Dank für die genetische Diagnostik. Der Abteilung für Pädiatrische Radiologie des Dr. von Haunerschen Kinderspitals danke ich für die Daten der röntgenologischen Untersuchungen. Dem Institut für Radiologische Diagnostik am Klinikum Innenstadt danke ich für die Unterlagen der Kernspintomographien.

Meinen Eltern danke ich, dass sie mir das Studium ermöglicht und mich dabei immer unterstützt haben. Außerdem bedanke ich mich bei meiner Schwester und Stefan für ihre Ermutigungen.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei Herrn Dr. Udo Gradenegger bedanken, der mir die Doktorandenstelle am von Haunerschen Kinderspital vermittelt hat und bei Frau Carina Fuchs für das gemeinsame Eingeben der Daten in ein Computerprogramm.

## 10. Veröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden auf dem XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis – Kyoto, July 23-29, 2011 vorgestellt:

Bidlingmaier, C., Knorr, S., Olivieri, M., Kurnik, K. (2011).

Mild versus severe Haemophilia A: The dilemma of an underestimated disease.

Journal of Thrombosis and Haemostasis, 9 (2), PP-WE-551.

Der Artikel „Mild versus severe hemophilia A: the diagnostic and therapeutic dilemma of an orphan disease – a single centre experience“ wurde bei dem Journal “Haemophilia” eingereicht.

## 11. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Susanne Knorr
Geburtsdatum	21.05.1984
Geburtsort	Lauf an der Pegnitz
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig

### Schulausbildung

1990 – 1994	Volksschule Freilassing
1994 – 2003	Rottmayr – Gymnasium Laufen
	Abschluss Abitur im Juni 2003

### Studium

2003 – 2004	Biochemie Studium an der Technischen Universität München
2004 – 2010	Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
	Naturwissenschaftliche zahnärztliche Vorprüfung im Herbst 2005
	Zahnärztliche Vorprüfung im Frühjahr 2007
	Staatsexamen Zahnmedizin im Januar 2010
	Approbation als Zahnärztin im Februar 2010
März 2010 bis Januar 2011	Promotionsstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Seit Februar 2011	Vorbereitungsassistentenzahnärztin bei Dr. Fritsch in Bayerisch Gmain