

X-chromosomale Thrombozytopenie mit WASP-Mutationen.

Klinik, Langzeitverlauf, Therapieoptionen. Multizentrische Studie an 185 Patienten.



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

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. D. Reinhardt

X-chromosomale Thrombozytopenie mit WASP-Mutationen.

Klinik, Langzeitverlauf, Therapieoptionen. Multizentrische Studie an 185 Patienten.

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

vorgelegt von

Tanja Bittner

aus Ansbach

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Bernd H. Belohradsky
2. Berichterstatterin: Prof. Dr. Ortrud Steinlein
- Mitberichterstatter: Prof. Dr. Helga Schmetzer
Prof. Dr. Thomas Lang
- Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Priv.-Doz. Dr. med. M. Albert
- Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR
- Tag der mündlichen Prüfung: 01.07.2010

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis.....	5
1 Einführung.....	6
1.1 <i>Einleitung</i>	6
1.1.1 Erstbeschreibung des Wiskott-Aldrich Syndroms.....	6
1.1.2 Erstbeschreibung der X-chromosomalen Thrombozytopenie	6
1.2 <i>Stand der Forschung</i>	7
1.2.1 Die Struktur von intaktem WASP.....	7
1.2.2 Normale WASP-Funktion und Effekte von defizientem WASP auf die hämatopoietischen Zellen	8
1.2.3 Genotyp-Phänotyp-Korrelation	8
1.2.4 Das Wiskott-Aldrich Syndrom	9
1.2.5 X-chromosomale Thrombozytopenie	9
1.2.6 WAS/XLT bei Frauen: vom Carrierstatus bis zum homozygoten Vollbild	11
1.3 <i>Diagnostik</i>	11
1.3.1 Etablierung der Diagnose XLT/WAS	11
1.3.2 Immunologische Diagnostik.....	11
1.3.3 Mutationsanalyse und Proteinanalytik	12
1.4 <i>Therapie</i>	12
1.4.1 Symptomatische Therapie	12
1.4.1.1 Medikamentöse Therapie	12
1.4.1.2 Splenektomie	13
1.4.2 Kurative Therapie.....	13
1.4.2.1 Hämatopoietische Stammzelltransplantation.....	13
1.4.2.2 Ausblick auf die Gentherapie	14
1.5 <i>Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit</i>	15
2 Patienten und Methodik.....	16
2.1 <i>Studienkonzept</i>	16
2.1.1 Studiendesign	16
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	16
2.2 <i>Patientengut</i>	17
2.2.1 Erstellung des Fragebogens.....	17
2.2.2 Auswahl und Rekrutierung der Ärzte	18
2.2.3 Aktenstudium am Dr. von Haunerschen Kinderspital.....	19
2.2.4 Datenerhebung.....	19
2.2.5 Zusammensetzung der endgültigen Studiengruppe.....	19
2.3 <i>Statistische Methoden</i>	20

3	Ergebnisse	22
3.1	<i>Grundauswertung der Gesamt-Kohorte</i>	22
3.1.1	Gesamtüberleben	22
3.1.2	Ereignisfreies Überleben.....	23
3.1.3	Kumulative Inzidenzen XLT-assoziiierter Komplikationen.....	24
3.1.3.1	Infektionen	24
3.1.3.2	Blutungen.....	26
3.1.3.3	Malignome.....	27
3.1.3.4	Autoimmunerkrankungen	28
3.2	<i>Analyse von Prognoseparametern</i>	30
3.2.1	Einfluss des klinischen WAS-Score auf den klinischen Verlauf	30
3.2.1.1	Vergleich des Outcome zwischen Patienten mit Score 1 oder 2.....	30
3.2.1.2	Vergleich von Score 1/2 mit Score 5	31
3.2.2	Einfluss verschiedener Mutationen auf den klinischen Verlauf	32
3.2.2.1	Vergleich von Mutationen im Exon 1/2 mit den übrigen Mutationen	33
3.2.2.2	Vergleich von Hotspots mit den übrigen Mutationen	34
3.2.2.3	Vergleich von Exon- mit Intron-Mutationen	35
3.2.3	Einfluss der WASP-Expression auf den klinischen Verlauf	40
3.3	<i>Analyse des Einflusses verschiedener Therapieoptionen.....</i>	41
3.3.1	Einfluss von prophylaktischer IVIG-Therapie auf den klinischen Verlauf	41
3.3.2	Einfluss von dauerhafter Antibiotika-Prophylaxe auf den klinischen Verlauf.....	43
3.3.3	Einfluss von Splenektomie auf den Krankheitsverlauf	45
4	Diskussion	49
4.1	<i>Allgemeines Studiendesign</i>	49
4.2	<i>Überlebens- und Ereigniszeitanalyse</i>	50
4.3	<i>XLT-assoziierte Komplikationen.....</i>	50
4.4	<i>Einfluss von Score, Mutationen und WASP auf den klinischen Verlauf.....</i>	52
4.5	<i>Einfluss gängiger Therapieoptionen auf den klinischen Verlauf</i>	55
4.6	<i>HSCT als therapeutische Option bei XLT?</i>	57
5	Zusammenfassung	58
6	Anhang.....	60
6.1	<i>Literaturverzeichnis.....</i>	60
6.2	<i>Ehrenwörtliche Erklärung</i>	68
6.3	<i>Danksagung.....</i>	69
6.4	<i>Lebenslauf</i>	70

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: STRUKTUR UND WESENTLICHE FUNKTIONELLE ABSCHNITTE DES WASP	7
ABBILDUNG 2: VERWENDETER XLT-FRAGEBOGEN	21
ABBILDUNG 3: ÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEIT ALLER XLT-PATIENTEN	22
ABBILDUNG 4: WAHRSCHEINLICHKEIT EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ALLER XLT-PATIENTEN	23
ABBILDUNG 5: KUMULATIVE INZIDENZ SCHWERER INFEKTIONEN	25
ABBILDUNG 6: KUMULATIVE INZIDENZ SCHWERER INFEKTIONEN OHNE SPLENEKTOMIE	25
ABBILDUNG 7: KUMULATIVE INZIDENZ SCHWERER BLUTUNGSEREIGNISSE	26
ABBILDUNG 8: KUMULATIVE INZIDENZ MALIGNER TUMORERKRANKUNGEN	28
ABBILDUNG 9: KUMULATIVE INZIDENZ VON AUTOIMMUNERKRANKUNGEN	29
ABBILDUNG 10: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT SCORE 1 ODER 2	30
ABBILDUNG 11: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT SCORE 1 ODER 2	30
ABBILDUNG 12: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT SCORE 1 2 ODER 5	31
ABBILDUNG 13: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT SCORE 1 2 ODER 5	31
ABBILDUNG 14: VERTEILUNG DER XLT-MUTATIONEN DER STUDIENTEILNEHMER IM WASP-GEN	33
ABBILDUNG 15: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT EXON 1 2- UND DEN RESTLICHEN MUTATIONEN	34
ABBILDUNG 16: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT EXON 1 2 UND DEN RESTLICHEN MUTATIONEN	34
ABBILDUNG 17: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT HOTSPOT- UND DEN RESTLICHEN MUTATIONEN	35
ABBILDUNG 18: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT HOTSPOT- UND DEN RESTLICHEN MUTATIONEN	35
ABBILDUNG 19: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT EXON- UND INTRON-MUTATIONEN	36
ABBILDUNG 20: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT EXON- UND INTRON-MUTATIONEN	36
ABBILDUNG 21: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN WASP-POSITIVEN UND WASP-NEGATIVEN PATIENTEN	40
ABBILDUNG 22: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN WASP-POSITIVEN UND WASP-NEGATIVEN PATIENTEN	41
ABBILDUNG 23: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE IVIG-THERAPIE	42
ABBILDUNG 24: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE IVIG-THERAPIE	42
ABBILDUNG 25: VERGLEICH DER KUMULATIVEN INZIDENZ SCHWERER INFEKTIONEN ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE IVIG-THERAPIE	43
ABBILDUNG 26: VERGLEICH DES GESAMTÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE ANTIBIOTISCHER PROPHYLAXE	44
ABBILDUNG 27: VERGLEICH DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE ANTIBIOTISCHER PROPHYLAXE	44
ABBILDUNG 28: VERGLEICH DER KUMULATIVEN INZIDENZRATE SCHWERER INFEKTIONEN ZWISCHEN PATIENTEN MIT UND OHNE ANTIBIOTISCHER PROPHYLAXE	45
ABBILDUNG 29: ZEIT BIS ZUR SPLENEKTOMIE	45
ABBILDUNG 30: VERGLEICH DER KUMULATIVEN INZIDENZ VON BLUTUNGEN ZWISCHEN NICHT-SPLENEKTOMIERTEN UND PATIENTEN NACH SPLENEKTOMIE	46
ABBILDUNG 31: SCHWERE ODER TÖDLICHE INFEKTIONEN NACH SPLENEKTOMIE, ABHÄNGIG VON DER DURCHFÜHRUNG ANTIBIOTISCHER PROPHYLAXE	47
ABBILDUNG 32: VERGLEICH DER KUMULATIVEN INZIDENZ VON INFEKTIONEN ZWISCHEN NICHT-SPLENEKTOMIERTEN UND PATIENTEN NACH SPLENEKTOMIE	48

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1:	SYSTEM ZUR BESTIMMUNG DES PHÄNOTYPS BEI PATIENTEN MIT WASP-MUTATIONEN.....	16
TABELLE 2:	PATIENTENVERTEILUNG AUF DIE EINZELNEN ZENTREN	19
TABELLE 3:	PATIENTENVERTEILUNG NACH LÄNDERN	20
TABELLE 4:	ÜBERLEBENSWAHRSCHEINLICHKEITEN ZU DEFINIERTEN ZEITPUNKTEN	22
TABELLE 5:	TODESURSACHEN IN DER KOHORTE	23
TABELLE 6:	WAHRSCHEINLICHKEITEN DES EREIGNISFREIEN ÜBERLEBENS ZU DEFINIERTEN ZEITPUNKTEN	23
TABELLE 7:	SCHWERE INFEKTIONSEREIGNISSE IN DER KOHORTE	24
TABELLE 8:	SCHWERE BLUTUNGSEREIGNISSE IN DER KOHORTE.....	26
TABELLE 9:	MALIGNOME IN DER KOHORTE	27
TABELLE 10:	AUTOIMMUNERKRANKUNGEN IN DER KOHORTE.....	29
TABELLE 11:	MUTATIONEN UND DEREN EFFEKT AUF PROTEINEXPRESSION UND KLINISCHEN PHÄNOTYP	39
TABELLE 12:	WASP-EXPRESSION IN DER KOHORTE	40
TABELLE 13:	SCHWERE INFEKTIONEN NACH SPLENEKTOMIE	47

Abkürzungsverzeichnis

A	AIHA	autoimmun-hämolytische Anämie
	Ala	Alanin
	Arg	Arginin
	Asn	Asparagin
	As	Asparaginsäure
C	CD	cluster of differentiation
	Cdc42	cell division cycle 42
	Cys	Cystein
E	EBV-LPD	Ebstein Barr Virus associated lymphoproliferative disease
	ESID	European Society of Immunodeficiencies
G	Gln	Glutamin
	Glu	Glutaminsäure
	Gly	Glycin
H	His	Histidin
	HSCT	hematopoietic stem cell transplantation
I	Ile	Isoleucin
	ITP	idiopathische thrombozytopenische Purpura
	IVIG	intravenous immunoglobulin
	IXLT	intermittent X-linked thrombocytopenia
L	Leu	Leucin
	Lys	Lysin
M	Met	Methionin
	MPV	mean platelet volume
P	Phe	Phenylalanin
	Pro	Prolin
S	Ser	Serin
T	Thr	Threonin
	Tregs	regulatorische T-Zellen
	Tyr	Tyrosin
V	Val	Valin
W	WAS	Wiskott-Aldrich Syndrom
	WASP	Wiskott-Aldrich Syndrom Protein
X	XLT	X-linked thrombocytopenia

1 Einführung

1.1 Einleitung

1.1.1 Erstbeschreibung des Wiskott-Aldrich Syndroms

Wiskott beschrieb 1937 als Erster eine Symptomkonstellation aus Blutungsneigung, Infektanfälligkeit und Ekzem bei drei männlichen Neugeborenen einer Familie. Alle Knaben der sieben Kinder litten bereits im ersten Lebensmonat unter Blutauflagerungen im Stuhl, im weiteren Verlauf entwickelten sie eine deutlich erhöhte Infektanfälligkeit und ekzematöse Hautveränderungen. Die Kinder erlagen im Alter von vier bis 18 Monaten alle diesem bis dahin unbekanntem Krankheitsbild [1]. Unabhängig davon vermutete der amerikanische Pädiater Aldrich 1954 bei diesem Symptomenkomplex erstmals das Vorliegen eines X-chromosomal rezessiven Erbgangs, da sich in der Familie eines schwer betroffenen Indexpatienten neben 16 betroffenen männlichen Vorfahren keine einzige weibliche erkrankte Person fand [2]. Später wurde die Erkrankung mit der Symptomtrias Immundefekt, Ekzem und Thrombozytopenie als Wiskott-Aldrich Syndrom bezeichnet.

1.1.2 Erstbeschreibung der X-chromosomalen Thrombozytopenie

Schaar beschrieb 1963 eine Familie, in der vier von sieben Brüdern eine nicht erklärbare chronische Thrombozytopenie mit Blutungsneigung als einziges Symptom aufwiesen. Weder die Töchter noch deren Eltern zeigten Auffälligkeiten [3]. Damals wurde mangels weiterer Befunde eine Verbindung mit dem Wiskott-Aldrich Syndrom (WAS) nicht in Erwägung gezogen. Bereits ein Jahr später beschrieb Vestermark eine Familie, in der fünf Knaben an essentieller Thrombozytopenie erkrankt waren. Anders als bei Schaar waren bei drei der Jungen neben der hämorrhagischen Diathese ein mildes Ekzem sowie eine leicht erhöhte Infektanfälligkeit zu beobachten. Eine Assoziation mit dem WAS wurde diskutiert, wenngleich dieser Verdacht damals nicht bewiesen werden konnte [4].

Später wurden weitere Fälle von Jungen mit angeborener Mikrothrombozytopenie publiziert und die Erkrankung schließlich als X-linked thrombocytopenia (XLT) bezeichnet [5, 6]. Den Beweis für die Assoziation von WAS und XLT erbrachte 1994 die erfolgreiche Isolierung des WAS-Protein (*WASP*-) Gens mit der Identifikation von XLT-Patienten als Träger von *WASP*-Mutationen [7, 8].

1.2 Stand der Forschung

1.2.1 Die Struktur von intaktem WASP

Das *WASP*-Gen besteht aus zwölf Exons, die ca. neun Kilobasen genomischer DNA umspannen. Die 1823 Basenpaare lange coding DNA-Sequenz (cDNA) kodiert für ein aus 502 Aminosäuren bestehendes, ca. 54 Kilo-Dalton schweres hydrophiles Protein, das ausschließlich in hämatopoietischen Zellen exprimiert wird [7, 9]. Es ist vornehmlich im Zytoplasma lokalisiert, wobei sich die größte Dichte von WASP entlang der Zellmembran befindet [10]. WASP ist Mitglied einer Familie von Proteinen, die an der Signaltransduktion von der Zelloberfläche zum Aktin-Zytoskelett beteiligt sind [11].

Verschiedene funktionelle Abschnitte innerhalb des Proteins wurden bislang identifiziert.

Die Pleckstrin Homologie-Domäne (PH) ist nahe dem N-Terminus des Proteins lokalisiert und umfasst Teile von Exon eins und zwei [12]. Sie gilt als wichtig für die Ortung von Proteinen durch Interagieren mit anderen Proteinen oder Lipiden und könnte eine Rolle beim Binden zytoplasmatischer Proteine an Membranen spielen [13]. PH überlappt mit der Ena/VASP Homologie 1-Domäne (EVH1), welche sich ebenfalls am N-terminalen Ende befindet und Exon drei mit einschließt [14]. Eine GTPase-bindende Domäne (GBD) ist in den Exons sieben und acht lokalisiert [15]. Cell division cycle 42 (Cdc42), ein Mitglied der Superfamilie der Rho-GTPasen, kann hier binden [15]. Die Aktivierung von Cdc42 durch Bindung von GTP stimuliert die Polymerisation von F-Aktin, welches an der Zellfront dünne, lange Ausläufer, sog. Filopodien bildet [16] und kontrolliert sowohl Zellpolarität wie auch Chemotaxis. WASP erkennt nur die GTP-gebundene Form von Cdc42 [17].

Die C-terminale VCA-Domäne (verprolin homology, cofilin homology, acidic region) umfasst die Exons zehn und elf [12]. Sie spielt eine Schlüsselrolle in der Regulation der Aktin-Polymerisation, da sie sowohl monomeres Aktin wie auch den actin related protein 2/3-Komplex binden kann, die Grundbausteine für die Neubildung von Aktin-Filamenten [18].

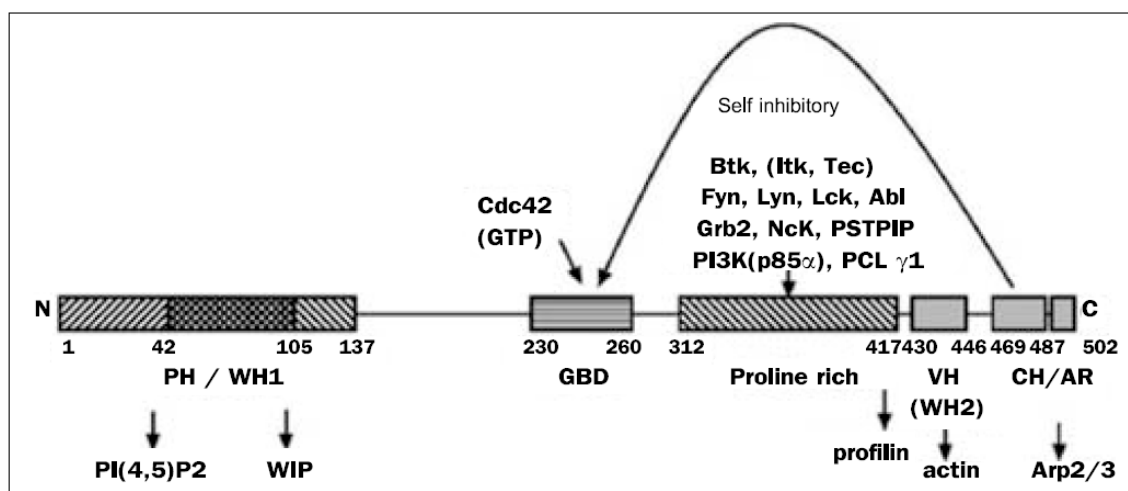


Abbildung 1: Struktur und wesentliche funktionelle Abschnitte des WASP

Aus: Ochs, H.D., The Wiskott-Aldrich syndrome. *Isr Med Assoc J*, 2002. 4(5): p. 382. [19]

1.2.2 Normale WASP-Funktion und Effekte von defizientem WASP auf die hämatopoietischen Zellen

WASP ist ein wichtiger Regulator der Aktin-Polymerisation [20]. WASP spielt eine Rolle in der Umstrukturierung des Zytoskeletts, die unter anderem für die Bildung der Immunsynapse zwischen T-Zellen und Antigen-präsentierenden Zellen benötigt wird [21]. Bei defektem WASP ist die Bildung der Immunsynapse beeinträchtigt, was in defekter T-Zell-Aktivierung und klinisch in einem T-Zell-Defekt resultiert [22]. Aktin-Polymerisation und Umbau des Zytoskeletts sind auch wichtig für die Zell-Motilität von Makrophagen und anderer Immunzellen, die durch Bildung von Aktin-reichen zytoplasmatischen Ausstülpungen, sog. Podosomen ermöglicht wird [23]. Vollständige WASP-Defizienz führt zu beeinträchtigter Adhäsions- und Fortbewegungsfähigkeit unter anderem von Makrophagen und dendritischen Zellen und hemmt das Homing der B-Zellen [23-25]. Natürliche Killerzellen von WAS-Patienten besitzen eine unzureichende zytolytische Potenz, bedingt durch einen Mangel an F-Aktin in der Immunsynapse [26]. Man geht davon aus, dass all diese Defekte zum klinischen Bild der Immundefizienz beitragen. Die Rolle der WASP-Defizienz in der Entwicklung der Thrombopenie und des Ekzems sind bisher noch nicht vollständig geklärt [27, 28].

1.2.3 Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Ungefähr 330 verschiedene Mutationen im *WASP*-Gen sind bisher veröffentlicht worden, die sich über alle 12 Exons und Introns erstrecken [29]. Eine Häufung mit Dominanz von Missense-Mutationen findet sich in den ersten vier Exons des Gens [30]. Im Allgemeinen sind Missense-Mutationen in den ersten drei Exons mit einer milden Form assoziiert, während Missense-Mutationen an anderen Stellen oder Stopp-Mutationen eher mit dem klassischen Phänotyp vergesellschaftet sind [31]. Abweichungen von dieser Regel sind jedoch möglich, so dass die Mutationsanalyse allein kein verlässlicher Prognoseparameter für den Krankheitsverlauf ist [32].

Ein zuverlässiger Prognoseparameter ist die An- oder Abwesenheit von WASP [33, 34]. Die Expression eines verkürzten oder trunkierten Proteins korreliert mit einem schweren klinischen Bild, bei Bildung einer verminderten Menge von Protein voller Länge resultiert eher ein milder Phänotyp [34]. Jedoch ist auch die Korrelation zwischen Protein-Expression und klinischer Ausprägung nicht als absolut anzusehen, so dass auch Patienten mit vorhandener Protein-Expression schwere Symptome der Krankheit entwickeln können [32].

1.2.4 Das Wiskott-Aldrich Syndrom

Die Inzidenz des X-chromosomal vererbten WAS wird auf 1 bis 10 Betroffene pro 1.000.000 lebend geborener Jungen in der europäischen Bevölkerung geschätzt [35-37]. Die pathologisch erhöhte Infektanfälligkeit äußert sich in rezidivierenden bakteriellen und viralen Infektionen [1, 2]. T- und B-Zell-Funktion sind eingeschränkt [38, 39]. War man früher der Meinung, die bei WAS typische Lymphopenie entwickle sich langsam bis zum sechsten Lebensjahr, so geht man heute davon aus, dass diese bereits ab Geburt besteht [40, 41]. Das für WAS typische Hautekzem ähnelt in Verteilung und Aussehen akuten oder chronischen Ekzemen, deren Ausprägung allerdings erheblich variieren kann [27].

Bei WAS-Patienten findet sich eine deutlich erhöhte Inzidenz von Autoimmunerkrankungen und Malignomen gegenüber der Normalbevölkerung. Das Spektrum der Autoimmunmanifestationen ist jedoch verändert: Vaskulitiden und autoimmun-hämolytische Anämien (AIHA) sind bei WAS am häufigsten vertreten [42]. Verglichen mit 3-5% der Normalbevölkerung leiden laut Studien bis zu 72% der WAS-Patienten an einer oder sogar mehreren Autoimmunphänomenen [43, 44]. 25% der WAS-Patienten einer Studie mit Autoimmunerkrankungen entwickelten im weiteren Verlauf ein Malignom, wohingegen dies nur bei 5% der WAS-Patienten ohne Autoimmunität der Fall war [42].

Eine retrospektive Datenanalyse ergab für WAS-Patienten ein kumulatives jährliches Risiko von 2% für die Entwicklung maligner Tumore mit einem 120fach erhöhtem Erkrankungsrisiko gegenüber der amerikanischen Normalbevölkerung [45]. In einer 1994 veröffentlichten Studie lag die Prävalenz maligner Erkrankungen bei 13% für eine nordamerikanische WAS-Kohorte, die Mehrheit davon lymphoretikulären Ursprungs. Das Durchschnittsalter bei Diagnosestellung lag bei 9.5 Jahren [42].

Die durchschnittliche Lebenserwartung ist dank verbesserter Therapieregimes von früher 3.5 Jahren heute auf etwa 20 Jahre gestiegen und kann inzwischen durch hämatopoietische Stammzelltransplantation (HSCT) kurativ behandelt werden [19, 42].

1.2.5 X-chromosomale Thrombozytopenie

Bei XLT handelt es sich um eine X-chromosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die vor allem das Blut bildende System betrifft [8]. Es wird angenommen, dass die Inzidenz ähnlich hoch ist wie die des klassischen WAS, jedoch könnte die Dunkelziffer durch falsch- oder nicht diagnostizierte Fälle viel höher liegen [27]. Der Gendefekt manifestiert sich postnatal mit chronischer Thrombozytopenie und vermindertem mittlerem Plättchenvolumen (MPV), wobei das Ausmaß der Plättchenarmut inter- und intraindividuell variieren kann [27]. Darüber hinaus sind eine evtl. bestehende leicht erhöhte Infektanfälligkeit im Sinne eines diskreten Immundefekts sowie eine fakultative Neigung zur Ekzembildung möglich [6].

Die Ursache der Mikrothrombozytopenie ist bis heute noch nicht vollständig geklärt. Klinisch manifestiert sich der Plättchenmangel vor allem durch petechiale Einblutungen in die Haut, gehäuftes Auftreten von Hämatomen, Episoden von Epistaxis bis hin zu lebensbedrohlichen Blutungen im Gastrointestinaltrakt oder potentiell tödlich verlaufenden Hirnblutungen. Hämorrhagische Ereignisse können prinzipiell in jedem Organsystem auftreten [42].

Das für WAS typische Ekzem ist bei XLT-Patienten allenfalls schwach ausgeprägt [5, 27]. Für die Inzidenz von Autoimmunphänomenen bei XLT-Patienten liegen bislang keine Daten vor [46]. Man geht zwar von einer geringeren Inzidenz als beim WAS aus [47], das Auftreten autoimmuner Manifestationen ist jedoch nicht zwingend vergesellschaftet mit einer generell schweren Ausprägung der Krankheit [34, 46].

Auf den ersten Blick scheint die Assoziation von Immundefekten und Autoimmunphänomenen ein Paradoxon darzustellen. Die hohe Prävalenz von Autoimmunerkrankungen bei WAS-Patienten könnte dadurch erklärt werden, dass autoreaktive WASP-negative T-Zellen aufgrund defekter T-Zell-Rezeptor-vermittelter Signale der Depletion entgehen [48]. WASP ist essentiell für eine optimale T-Zell-Aktivierung [22, 49]. Natürlich vorkommende, im Thymus gebildete CD4⁺-regulatorische T-Zellen (Tregs) kontrollieren autoreaktive T-Zellen und spielen eine entscheidende Rolle in der Aufrechterhaltung der immunologischen Selbsttoleranz [50]. Neue Studien deuten darauf hin, dass WASP-negative Tregs nur unzureichend in der Peripherie aktiviert werden und in ihrer suppressiven Funktion beeinträchtigt sind, was den Weg für autoreaktive Prozesse ebnet [48, 51]. Alternativ könnten dauerhafte inflammatorische Stimuli durch unzureichende Erregerelimination im Rahmen des Immundefektes, Beeinträchtigung der Interleukin-2-Produktion in T-Lymphozyten oder Veränderungen im System der Antigen-präsentierenden Zellen und/oder Makrophagen-Funktion an der Entstehung von Autoimmunität beteiligt sein [48, 52]. Am ehesten ist von einem komplexen multifaktoriellen Geschehen auszugehen.

Für die Inzidenz maligner Tumoren bei XLT-Patienten liegen ebenfalls keine publizierten Daten vor. Man geht davon aus, dass diese höher als in der Allgemeinbevölkerung, aber niedriger ist als bei WAS-Patienten ist [47].

2002 wurden erstmals WASP-Mutationen entdeckt, die lediglich zu intermittierender Mikrothrombozytopenie bei sonst kaum vorhandenen Symptomen führen. Diese Variante, als X-chromosomal intermittierende Thrombozytopenie (IXLT) bezeichnet, gilt als die mildeste, durch WASP-Mutationen verursachte Erkrankung [53, 54].

Inzwischen wurden Mutationen im WASP-Gen entdeckt, die zu einer Neutropenie ohne die anderen für XLT und WAS typischen Symptome führen, X-chromosomale Neutropenie (XLN) genannt. Zugrunde liegt hier ein Verlust der Autoinhibition des WASP-Gens, was unter anderem in erheblichen Abweichungen der Zytoskelett-Architektur und der Zelldynamik resultiert [55, 56].

1.2.6 WAS/XLT bei Frauen: vom Carrierstatus bis zum homozygoten Vollbild

Bei Überträgerinnen der Erkrankung findet man eine zufällige Lyonisierung und damit ein Mosaik aus WASP-defizienten und normalen Zellen in den Blutzellen [57-59]. Durch verschiedene Mechanismen kann eine nicht zufällige X-Inaktivierung zum Auftreten von Symptomen auch bei Frauen führen [60, 61]: Strukturelle Chromosomenaberrationen oder ein zusätzlicher Defekt auf dem anderen X-Chromosom könnten die Aktivierung des intakten WASP-Allels verhindern [62]. Da der Prozess der Inaktivierung genetisch gesteuert ist, könnte auch eines der daran beteiligten Gene defekt sein [61]. Im Jahre 2005 wurde der erste und bisher einzige Fall einer homozygoten XLT-Patientin veröffentlicht [63].

1.3 Diagnostik

1.3.1 Etablierung der Diagnose XLT/WAS

Die alleinige Bestimmung der Thrombozytenzahlen kann zur falschen Diagnose einer idiopathischen thrombozytopenischen Purpura (ITP) führen, weshalb bei Verdacht auf XLT/WAS eine Bestimmung des MPV veranlasst werden sollte. Das Knochenmark ist in der Regel unauffällig, eventuell findet sich eine erhöhte Anzahl an Megakaryozyten [40].

Die Diagnose XLT/WAS gilt als gesichert bei männlichen Patienten mit angeborener Mikrothrombozytopenie und mindestens einem der folgenden Befunde:

- Mutation im WASP-Gen
- Nicht nachweisbare WASP mRNA im Northern Blot von Lymphozyten
- Nicht nachweisbares WASP in Lymphozyten
- Mütterliche positive Familienanamnese für Mikrothrombozytopenie [64].

Bei Frauen, die aufgrund von nicht zufälliger X-Inaktivierung in peripheren Blutzellen oben genannte Kriterien erfüllen, gilt die Diagnose ebenfalls als gesichert [35]. Die Kombination aus Thrombozytopenie und ekzematösen Hautveränderungen sollten immer an WAS denken lassen und entsprechende Diagnostik nach sich ziehen. Bei XLT ist häufig die Thrombozytopenie das einzige Symptom.

1.3.2 Immunologische Diagnostik

Die absolute Zahl an B- und T-Lymphozyten ist bei WAS häufig schon ab Geburt verringert, während die natürlichen Killerzellen zahlenmäßig im Normbereich liegen [39, 41]. Genauere Informationen über einen möglichen zellulären Immundefekt erhält man durch Quantifizierung der Lymphozyten-Subpopulationen. Diese können normal verteilt sein oder im Verlauf

eine selektive Verringerung der T-Lymphozyten zeigen [39, 40]. Bei XLT sind in der Regel sowohl die absoluten Lymphozyten als auch deren Subpopulationen im Normbereich [40]. Die Untersuchung der T- und B-Zell-Funktion dient der Abschätzung des Schweregrads des Immundefekts. Während WAS-T-Lymphozyten im Transformationstest eine deutlich reduzierte Stimulierbarkeit mit einigen Mitogenen zeigen, finden sich bei XLT höchstens leicht verminderte Werte [40, 65, 66]. Die humorale Immunantwort der B-Lymphozyten wird über quantitative Bestimmung der Immunglobulin-Fraktionen und die Fähigkeit zur spezifischen Antikörper-Bildung beurteilt. Meist findet sich bei WAS eine Erhöhung von IgE und IgA bei verminderten IgM-Spiegeln, während IgG in der Regel im Normbereich liegt [40, 67]. Generell zeigen die Immunglobulinspiegel jedoch eine erhebliche Variationsbreite [43]. Ein deutlich erhöhter IgM-Spiegel wurde im Rahmen einer klinischen Studie als Risikofaktor für die Entwicklung einer AIHA identifiziert [43]. Nicht immer werden ausreichend Antikörper gegen Polysaccharidantigene gebildet [42]. Insuffizientes Ansprechen auf aktive Vakzinierung mit proteinhaltigen Totimpfstoffen wie Tetanus und Diphtherie ist gelegentlich zu beobachten [27]. Auch die humorale Immunität ist bei XLT-Patienten in der Regel normal [27, 40]. Im Laufe des Lebens kann aber ein zellulärer und humoraler Immundefekt apparent werden [27, 40].

1.3.3 Mutationsanalyse und Proteinanalytik

Das neueste Verfahren zur Erfassung von Mutationen im *WASP*-Gen basiert auf Multiplex-PCR-Analyse und direkter Sequenzierung der genomischen DNA. Diese Methode erlaubt die gleichzeitige Vervielfältigung aller zwölf Exons des *WASP*-Gens [29, 68]. Die quantitative Proteinanalyse kann sowohl mittels Western Blot als auch per fluorescence activated cell sorting (FACS) erfolgen [10, 69].

1.4 Therapie

1.4.1 Symptomatische Therapie

1.4.1.1 Medikamentöse Therapie

Das für WAS typische Hautekzem tritt bei XLT-Patienten allenfalls in milder Ausprägung auf [8, 70]. Schweres Ekzem bei WAS muss aggressiv lokal und unter Umständen systemisch mit Glukokortikoiden behandelt werden [71]. Bei bakterieller Superinfektion ist eine topische und gegebenenfalls systemische Therapie mit Antibiotika indiziert [71].

Symptomatische Behandlungsversuche der Thrombozytopenie erfolgten früher mit systemisch applizierten Glukokortikoiden, welche sich jedoch nicht als wirksam erwiesen haben

[72, 73]. Auch intravenös verabreichte Immunglobuline (IVIG) führen, wenn überhaupt, nur zu einem transienten und diskreten Anstieg der Plättchenzahlen [34, 74, 75]. Einen kurzfristigen Anstieg erreicht man durch die Gabe von Thrombozytenkonzentraten [74]. Allerdings sollte dies wegen potentiell möglicher Allo-Antikörperbildung, die bei nachfolgenden Transfusionen zu immunologisch vermittelter refraktärer Thrombozytopenie führen kann, blutungsbedingten Notfällen oder perioperativer Reduktion des Blutungsrisikos vorbehalten bleiben [76, 77].

Zur Behandlung und Vermeidung von bakteriellen Infektionen werden eine antibiotische Prophylaxe gegen *Pneumocystis jirovecii* und IVIG eingesetzt [78, 79].

1.4.1.2 Splenektomie

Wurde die Splenektomie zunächst als eine geeignete Methode zur Anhebung der Thrombozytenzahlen im Management unkontrollierbarer schwerer Blutungen beim WAS propagiert, ist man inzwischen bei der Indikationsstellung zur Splenektomie für XLT- und WAS-Patienten zurückhaltender, zumal heute kurative Behandlungsansätze zur Verfügung stehen [78]. Zwar kann durch Entfernung der Milz die Thrombozytenzahl meist nachhaltig angehoben und auch das MPV positiv beeinflusst werden [75, 80]. Das Blutungsrisiko wird dadurch jedoch nicht gänzlich eliminiert, weil funktionelle Plättchenparameter oft unter der Norm bleiben [81, 82]. Zudem kann sich postoperativ auch eine ITP entwickeln [43]. Retrospektive Analysen zeigen zudem ein deutlich erhöhtes Risiko für lebensbedrohliche Infektionen nach Splenektomie bei dieser immundefizienten Patientengruppe [83]. Dieses Risiko kann zwar durch Prävakzinierung und lebenslange Antibiotika-Prophylaxe gemindert, jedoch nicht vollkommen ausgelöscht werden [82, 84]. Kommt ein Patient für HSCT in Frage, sollte im Vorfeld möglichst von einer Milzentfernung abgesehen werden, da dies das Risiko für schwere Infektionen nach Transplantation erhöht [47, 85]. Eine erhöhte Inzidenz von Tumor Neubildungen nach Splenektomie wurde bisher nicht beschrieben [27].

1.4.2 Kurative Therapie

1.4.2.1 Hämatopoietische Stammzelltransplantation

In den USA wurde 1968 erstmals erfolgreich eine HSCT bei einem zweijährigen WAS-Patienten durchgeführt [86]. Die Erforschung des HLA-Systems ermöglichte enorme Fortschritte in der Auswahl geeigneter Spender, sodass sich heute die allogene HSCT als bisher einzige kurative Behandlungsform in der Therapie des WAS etabliert hat [85]. Bei XLT-Patienten erschweren jedoch die potentiellen Risiken der Intervention eine Entscheidung für oder gegen diesen Eingriff [87, 88], zumal bisher zuverlässige Prognoseparameter fehlen, die

den klinischen Verlauf beim Einzelnen vorhersagen und somit eine Kosten-Nutzen-Abwägung erleichtern könnten.

Sehr gute Erfolge mit einer Fünfjahres-Überlebensrate von bis zu 87%, werden seit über 20 Jahren bei der Transplantation von human leucocyte antigen (HLA)-identischen Geschwisterspendern (matched sibling donor, MSD) erzielt [89]. Die Konditionierung erfolgt standardmäßig als myeloablative Chemotherapie mit Busulfan und Cyclophosphamid [85]. Trotzdem kommt es nach Transplantation bei WAS gehäuft zum Auftreten eines gemischten Chimärismus. In einer groß angelegten Studie entwickelten 20% der transplantierten Patienten mit gemischtem Chimärismus im weiteren Verlauf Autoimmunerkrankungen [85]. Steht kein HLA-identisches Familienmitglied zur Verfügung, besteht die Möglichkeit, einen unverwandten HLA-identischen Spender (matched unrelated donor, MUD) ausfindig zu machen. Das Transplantationsergebnis nach MUD-HSCT ist bei Kindern unter fünf Jahren vergleichbar mit dem bei Verwendung eines MSD [90]. Eine weitere alternative Quelle sind Stammzellen aus Nabelschnurblut (unrelated cord blood, UCB), wo nach ersten Berichten mit ähnlichen Erfolgsraten wie bei HLA-identischen Fremdspendern gerechnet werden kann [91, 92]. Die Verwendung von HLA-inkompatiblen Stammzellen von Blutsverwandten (mismatched related donor, MMRD) hat hingegen bisher wesentlich schlechtere Erfolgsraten gezeigt, weshalb sie für Patienten mit ungünstiger Prognose nach erfolgloser Spendersuche reserviert ist [89].

1.4.2.2 Ausblick auf die Gentherapie

An der Entwicklung sicherer Gentherapie-Konzepte, die eine Heilung durch Transplantation korrigierter autologer Blutstammzellen ermöglichen könnten, wird seit Jahren intensiv geforscht [93, 94]. Die Schwierigkeiten und Herausforderungen liegen hierbei in der Auswahl geeigneter Vektoren ohne Geno- und Zytotoxizität nach Einschleusung in die Stammzellen, dauerhafter stabiler Integration des Gens in das Chromosom, der Vermeidung einer Onkogen-Aktivierung beim Einbau der Erbinformation sowie in der vollständigen Wiederherstellung der Funktion des *WASP*-Gens [95]. Versuche *in vitro* sowie präklinische Tests mit *WASP*-Knockout-Mäusen zeigen sich bisher sehr Erfolg versprechend und ebnen den Weg für die Anwendung am Menschen [94, 96]. In Deutschland hat bereits der erste bisher erfolgreiche klinische Versuch an zwei WAS-Patienten stattgefunden, die nun langfristig klinisch beobachtet werden müssen [C. Klein, personal communication].

1.5 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Über die molekularbiologischen Grundlagen und den klinischen Verlauf beim klassischen WAS ist dank enormer Forschungsarbeit in den letzten 15 Jahren und einiger großer klinischer Studien vieles bekannt. Intravenös verabreichte Immunglobuline und prophylaktische Antibiotika-Therapie zur Überbrückung der Zeit bis zur allogenen Stammzelltransplantation stellen für diese Kinder derzeit das therapeutische Vorgehen der Wahl dar.

Der klinische Verlauf beim milderen Phänotyp XLT ist jedoch kaum erforscht, es existiert bislang keine klinische Studie, die sich ausschließlich mit XLT-Patienten beschäftigt. Jedoch stellt gerade diese Patientengruppe eine enorme Herausforderung bei der Entscheidung über Art und Ausmaß des therapeutischen Vorgehens dar, da es keine klar definierten Behandlungsrichtlinien für diese Patientengruppe gibt.

Ziel war deshalb die Durchführung einer klinischen Studie über den natürlichen Krankheitsverlauf der milden Form des Wiskott-Aldrich Syndroms.

Den Ausgangspunkt hierfür bildete eine retrospektive Fragebogen-basierte Erfassung wichtiger klinischer Daten der Betroffenen an pädiatrischen Zentren weltweit.

Folgende Fragen sollten im Rahmen dieser Studie geklärt werden:

- Wie ist der natürliche Krankheitsverlauf bei XLT-Patienten?
- Wie hoch ist die Rate an XLT-assoziierten Komplikationen bei dieser als mild eingestuft Form des Wiskott-Aldrich Syndroms?
- Gibt es Prognoseparameter, die den individuellen Krankheitsverlauf vorhersagen können?
- Wie wirksam sind die für WAS verwendeten Therapieoptionen IVIG-Therapie und antibiotische Prophylaxe bei XLT-Patienten?
- Wie wirkt sich eine Splenektomie auf den klinischen Verlauf aus?
- Ist auch bei XLT eine HSCT zu erwägen?

Um diese Fragen zu klären, führten wir in einer Querschnittsstudie eine umfassende Überlebens- und Ereigniszeitanalyse in einer Kohorte von 185 XLT-Patienten durch.

2 Patienten und Methodik

2.1 Studienkonzept

2.1.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine retrospektive multizentrische einarmige Kohorten-Studie, bei der per Fragebogen wichtige klinische Daten von XLT-Patienten erhoben wurden. Ausgefüllt wurde dieser von den behandelnden Ärzten, anonymisiert nach Einverständniserklärung der Patienten oder dessen Erziehungsberechtigten. Vor Beginn der Untersuchung wurde ein Antrag an die lokale Ethikkommission der LMU gestellt, welche das Vorhaben aufgrund seiner Retrospektivität und Anonymisierung als nicht genehmigungspflichtig einstufte.

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Nach Abschluss der Datenerhebung mussten die geeigneten Patienten für die Studie ausgewählt werden. Als Orientierung für die Einstufung der Patienten diente unter anderem die von Zhu et al [70] etablierte Einteilung zur Klassifizierung des Phänotyps bei Patienten mit Mutationen im *WASP*-Gen (WAS-Score, siehe Tabelle 1) [27].

	IXLT	XLT		aWAS	WAS		XLN
Score	<1	1	2	3	4	5	0
Thrombozytopenie	(+)	+	+	+	+	+	-
Vermindertes Plättchenvolumen	+	+	+	+	+	+	-
Ekzem	-	-	(+)	+	++	(+)/+/++	-
Immundefekt	-	-/+	(+)	+	+	(+)/+	-
Infektionen	-	-	(+)	+	+/++	(+)/+/++	-
Autoimmunerkrankung und/oder Malignom	-	-	-	-	-	+	-
Angeborene Neutropenie	-	-	-	-	-	-	+

Tabelle 1: System zur Bestimmung des Phänotyps bei Patienten mit WASP-Mutationen

Legende: -, nicht vorhanden; -/+, nicht vorhanden oder mild; +, vorhanden; (+), mildes transientes Ekzem, milde Infektionen, intermittierende Thrombozytopenie; +, persistierendes auf Therapie ansprechendes Ekzem, rezidivierende Infektionen, die Antibiotika- und/oder IVIG-Gabe erfordern; ++, therapieresistentes Ekzem, lebensbedrohliche Infektionen; IXLT: intermittierende X-chromosomale Thrombozytopenie; aWAS: mildes WAS; XLN: X-chromosomale Neutropenie.

Folgende Einschlusskriterien wurden angewendet:

1. Vom behandelnden Arzt als XLT-Patient klassifiziert.
2. Nachgewiesene Mutation im *WASP*-Gen mit exakter Angabe von Art und Lokalisation der Mutation.
3. Bei Patienten über zwei Jahren ein WAS-Score von maximal 2. Bei Kindern unter zwei Jahren musste zusätzlich zu einem WAS-Score ≤ 2 noch eine XLT-typische Mutation vorhanden sein. Eine Progression zu einem Score von 4 oder 5 wegen schwerer Infektionen, Entwicklung von Autoimmunerkrankung oder Malignom wurde dokumentiert und analysiert, führte jedoch nicht zum Ausschluss aus der Studie.
4. Vollständigkeit zwingend erforderlicher Angaben wie Geburtsmonat und -jahr oder die Todesursache.

Eine durchgeführte HSCT führte nicht zum Ausschluss eines Patienten. Die Beobachtung wurde jedoch hierfür zensiert, d.h. der Zeitpunkt der HSCT wurde als Endpunkt der Beobachtung definiert.

2.2 Patientengut

2.2.1 Erstellung des Fragebogens

Ziel war es, mit einem englischsprachigen Fragebogen (siehe Abbildung 2, S.21) die wichtigsten klinischen Informationen zu erheben. Der Kopfteil enthält die persönlichen Angaben der Patienten in verschlüsselter Form. Das betreuende Zentrum ist neben dem Datum der letzten Konsultation angegeben.

Die ersten sechs Unterpunkte widmen sich der klinischen Symptomatik. Fragen nach Infektionen, Ekzem, Schweregrad der Thrombozytopenie, Blutungsneigung, Auftreten von Autoimmunerkrankung(en) oder Malignom(en) konnten nach einem einheitlichen System angekreuzt werden. Besonderes Augenmerk galt den Ereignissen, die den Krankheitsverlauf erheblich beeinflussen können, d.h. schwere Infektionen und Blutungen sowie Entwicklung von Autoimmunität und Tumoren. Eine exakte Definition des Antwortfeldes „severe“ war dafür unerlässlich. Als schwere Infektion eingestuft wurden dabei potentiell lebensbedrohliche oder tödlich verlaufene Infektionen, wie Meningitis oder auch Pneumonien, die einen stationären Krankenhausaufenthalt und respiratorische Unterstützung in Form von Sauerstoffgabe oder maschineller Beatmung notwendig machten. Blutungsereignisse wurden dann als schwer gewertet, wenn sie zur stationären Behandlung und/oder Substitution von Erythrozyten- und/oder Thrombozytenkonzentraten führten und potentiell lebensbedrohlich oder tödlich waren.

Unterpunkt sieben und acht befassten sich mit der Sicherung der Diagnose mittels genetischer Mutationsdiagnostik und quantitativer Proteinanalyse. Bei durchgeführter Proteinanalyse waren sowohl die Menge an detektiertem Protein als auch die Labormethode anzugeben. Der neunte Unterpunkt erfragte bisher eingeleitete therapeutische Schritte und deren Erfolg. Angaben über medikamentöse Behandlung mit Antibiotika, IVIG oder anderen Medikamenten sowie die invasiven Verfahren Splenektomie und HSCT erforderten eine möglichst genaue Datierung in einem Freitextfeld.

Der letzte Punkt erfragte das Vorhandensein einer schriftlichen Einverständniserklärung für die Übermittlung und letztendlich Veröffentlichung der anonymisierten Patientendaten.

2.2.2 Auswahl und Rekrutierung der Ärzte

Der erste Schritt war das Versenden eines Anschreibens, in dem wir unser Studienziel vorstellten und um das Ausfüllen eines kurzen Kontaktformulars baten, das einen Überblick über allgemeines Interesse an der Studie sowie die mögliche Anzahl an rekrutierbaren Patienten geben sollte.

Die Auswahl der ärztlichen Kollegen erfolgte gezielt, da insgesamt nur wenige Pädiater Kinder mit dieser seltenen Erkrankung betreuen. Wir hielten uns zunächst vorwiegend an Mitglieder der European Society of Immunodeficiencies (ESID), im nächsten Schritt wurde der Kreis um internationale Zentren erweitert, die bereits über WAS und/oder XLT wissenschaftlich publiziert hatten. Insgesamt wurden 89 Ärzte aus 69 Zentren angeschrieben. Da wir die Studieninformationen und den Fragebogen auch online auf der Homepage der ESID (<http://www.esid.org>) zur Verfügung gestellt hatten, erhielten wir im Laufe der Datenerhebung auch Zuschriften von interessierten Kollegen, die auf diesem Weg von unserer Studie erfahren hatten. Viele der Angeschriebenen leiteten unseren Brief an Kollegen weiter, die XLT- und WAS-Patienten betreuen.

Nach Rücklauf des Kontaktformulars wurde der einseitige Fragebogen an alle versandt, die ihre Unterstützung in diesem Projekt zugesichert hatten. Die behandelnden Ärzte sollten den Fragebogen entweder online auf der ESID-Homepage oder per Hand für jeden Patienten unter Zuhilfenahme der jeweiligen Krankenakte ausfüllen und per Fax, Post oder Email an das Dr. von Haunersche Kinderspital zurücksenden.

2.2.3 Aktenstudium am Dr. von Haunerschen Kinderspital

Das im Dr. von Haunerschen Kinderspital geführte WAS-/XLT-Register umfasst neben einer Reihe von Verdachtsfällen 47 gesicherte WAS-Fälle aus dem deutschsprachigen Raum sowie zwölf XLT-Patienten. Alle diese XLT-Patienten werden oder wurden in München betreut. Ich erhielt Zugang zum Archiv der Kinderklinik und studierte die Krankenakten dieser zwölf Patienten, die alle in die Studie eingeschlossen werden konnten.

2.2.4 Datenerhebung

Von Juli 2007 bis Januar 2009 gingen insgesamt 201 ausgefüllte Fragebögen aus 22 Zentren ein; zusammen mit den zwölf Patienten aus dem Dr. von Haunerschen Kinderspital bestand die vorläufige Datensammlung schließlich aus 213 Patienten aus 23 Zentren.

2.2.5 Zusammensetzung der endgültigen Studiengruppe

185 der insgesamt 213 Patienten erfüllten die Einschlusskriterien. Somit stand die bisher größte weltweit zusammengetragene Kohorte von XLT-Patienten zur Auswertung zur Verfügung (siehe Tabellen 2 und 3).

Zentrum	Patienten (%)
Seattle, University of Washington, Children's Hospital	60 (32.4%)
Tokorozawa, National Defense Medical College	24 (13.0%)
London, University College, Institute of Child Health	21 (11.4%)
Brescia, Oncoematologica Pediatrica	19 (10.3%)
Angers, Centre Hospitalier Universitaire	15 (8.1%)
München, Dr. von Haunersches Kinderspital	12 (6.5%)
Göteborg, The Queen Silvia Childrens`Hospital	6 (3.2%)
Tokyo, Medical and Dental University	5 (2.7%)
Berlin, Charité, Campus Virchow-Klinikum	3 (1.6%)
Barcelona, C.S.I Universitaria	3 (1.6%)
Barcelona, Centro Regulació Genòmica	3 (1.6%)
Nijmegen, St. Radboud University Medical Center	3 (1.6%)
Moskau, Federal Center for Hematology, Oncology and Immunology	2 (1.1%)
München, Kinderklinik der TU	2 (1.1%)
Melbourne, The Royal Children`s Hospital	1 (0.5%)
Durham, Duke University Medical Center	1 (0.5%)
Haifa, Meyer Children`s Hospital	1 (0.5%)
Manchester, Manchester Royal Infirmary	1 (0.5%)
Braunschweig, Kinderklinik	1 (0.5%)
Freiburg, Universitäts-Kinderklinik	1 (0.5%)
Ulm, Universitäts-Kinderklinik	1 (0.5%)
n	185 (100%)

Tabelle 2: Patientenverteilung auf die einzelnen Zentren

Land	Patienten (%)
USA	61 (33.0%)
Japan	29 (15.7%)
Großbritannien	22 (11.9%)
Deutschland	20 (10.8%)
Italien	19 (10.3%)
Frankreich	15 (8.1%)
Spanien	6 (3.2%)
Schweden	6 (3.2%)
Niederlande	3 (1.6%)
Russland	2 (1.1%)
Israel	1 (0.5%)
Australien	1 (0.5%)
n	185 (100%)

Tabelle 3: Patientenverteilung nach Ländern

2.3 Statistische Methoden

Die statistische Analyse des Datensatzes erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms Prism 3.0 der Firma GraphPad, La Jolla, USA. Es wurden Kaplan-Meier-Überlebenskurven und Kurven der kumulativen Inzidenzen erstellt, die mittels Log-Rank-Test verglichen wurden. Andere Analysen erfolgten mittels Chi-Square-Test und dem Fisher exact test, wobei ein p-Wert $\leq 0,05$ als signifikant gewertet wurde.

Mutationen und deren vermutete Effekte auf Proteinebene wurden mit der Software Clone Manager Suite Version 7 der Firma Sci Ed Central, Cary, USA nachvollzogen und verifiziert.

Date of birth:	Last contact:	Center
Initials:	Date of death:	

1. INFECTIONS

not different to general population

mild, no sequelae (otitis media,...)

moderate

severe (pneumonia, meningitis, sepsis,...)

fatal: _____ (kind of infection, microorganism)

stamp (please include email)

2. ECZEMA

none mild moderate severe

3. THROMBOCYTOPENIA

mild (≥ 50.000 or cyclic)

moderate (20.000-50.000)

severe (≤ 20.000)

4. BLEEDING

mild (petechiae, bruising, mucosal bleeding)

severe bleeding how often: _____

fatal bleeding: _____ (location)

5. MALIGNANCY

no yes age at diagnosis: _____

lymphoma type: _____ outcome: _____

leukemia type: _____ outcome: _____

6. AUTOIMMUNITY

no yes age at diagnosis: _____

hemolytic anemia vasculitis

nephropathy others: _____

inflammatory bowel disease

7. MUTATION exact mutation nomenclature: _____ date of analysis: _____

8. WAS PROTEIN ANALYSIS not done

done result: normal method: FACS

reduced Western Blot

absent

9. THERAPY

i.v. IgG since: _____ splenectomy date: _____

antibiotic prophylaxis since: _____ BMT date: _____

other: _____ outcome: _____

10. WRITTEN CONSENT FOR DATA TRANSMISSION yes no

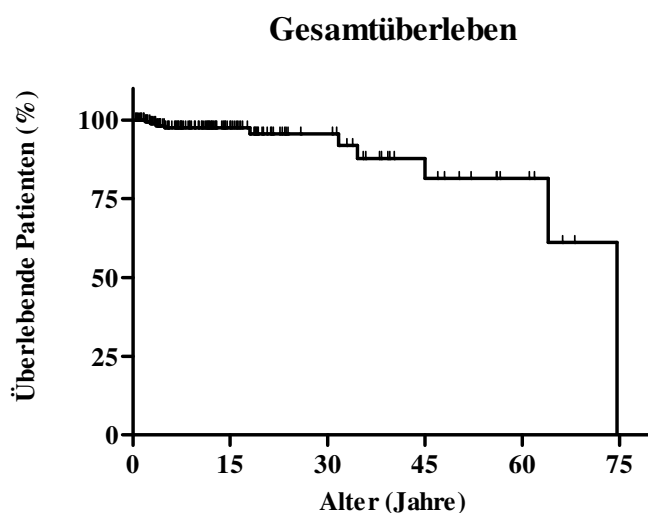
Abbildung 2: verwendeter XLT-Fragebogen

3 Ergebnisse

3.1 Grundausswertung der Gesamt-Kohorte

3.1.1 Gesamtüberleben

Das mediane Gesamtüberleben im Beobachtungszeitraum lag bei 11.2 Jahren (Spannweite 0.4-74.6 Jahre). Insgesamt standen 2864 Patientenjahre, zensiert für HSCT, zur Auswertung zur Verfügung. Die Anzahl verfügbarer Patienten zu definierten Zeitpunkten samt der zugehörigen Überlebenswahrscheinlichkeiten sind Tabelle 4 zu entnehmen. Der mediane Follow-Up der Patienten betrug 11.5 Jahre (0.4-74.6 Jahre). Abbildung 3 zeigt die Kaplan-Meier-Kurve der Gesamt-Überlebenswahrscheinlichkeit der Studiengruppe (n=185). Diese und alle folgenden Graphen sind zensiert für HSCT, das Zeichen | steht jeweils für ein zensiertes Ereignis.



verfügbare Patienten: 185 67 28 14 6 0

Abbildung 3: Überlebenswahrscheinlichkeit aller XLT-Patienten

Alter (Jahre)	Verfügbare Patienten	Überlebenswahrscheinlichkeit	95 %-Konfidenzintervall
0	185	99.5%	99-100
15	67	97%	95-100
30	28	95%	90-100
45	14	81%	65-97
60	6	81%	65-97

Tabelle 4: Überlebenswahrscheinlichkeiten zu definierten Zeitpunkten

Insgesamt waren 10 Todesfälle in der Studiengruppe (5.4%) zu verzeichnen. Die einzelnen Todesursachen sind Tabelle 5 zu entnehmen. Die Sterbefälle ereigneten sich in einem medianen Alter von 24.8 Jahren. Todesfälle nach HSCT fanden keinen Eingang in die Analyse.

Todesursache	Patienten gesamt
Schwere Blutung (pulmonal, intrakraniell, gastrointestinal)	5
Schwere Infektion (Sepsis, gastrointestinal)	3
Malignom (B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom, Pankreas-Karzinom)	2
Autoimmunerkrankung	0
Todesfälle gesamt	10

Tabelle 5: Todesursachen in der Kohorte

3.1.2 Ereignisfreies Überleben

Ereignisse wurden definiert als potentiell lebensbedrohliche oder tödlich verlaufene Infektionen oder Blutungen, Auftreten einer Autoimmunerkrankung oder eines Malignoms. Die Wahrscheinlichkeiten für das ereignisfreie Überleben zu definierten Zeitpunkten sind Tabelle 6 zu entnehmen. Das mediane ereignisfreie Überleben betrug 10.0 Jahre mit einer Spannweite von 0-73.9 Jahren. Abbildung 4 zeigt die Kaplan-Meier-Kurve der Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens in der Studiengruppe (n=185).

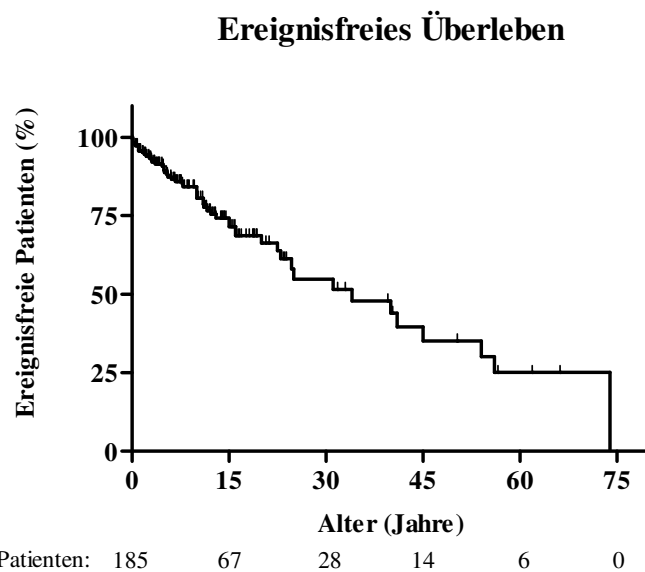


Abbildung 4: Wahrscheinlichkeit ereignisfreien Überlebens aller XLT-Patienten

Alter (Jahre)	Verfügbare Patienten	Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens	95%-Konfidenzintervall
0	185	95%	90-100
15	67	72%	65-81
30	28	52%	38-66
45	14	35%	19-51
60	6	25%	9-41

Tabelle 6: Wahrscheinlichkeiten des ereignisfreien Überlebens zu definierten Zeitpunkten

Die größte Gruppe an Ereignissen stellten schwere Blutungen (14.1%), gefolgt von Autoimmunerkrankungen (11.9%) dar. Schwere Infektionen betrafen 7.6% der Komplikationen. Das Risiko für die Entwicklung maligner Tumoren war mit 4.9% am geringsten. Insgesamt verzeichneten wir 90 Zwischenfälle bei 52 Patienten. Es tauchen jeweils nur die Erstereignisse in den Einzelanalysen auf. 18 der 52 Patienten (34.6%) hatten im Lauf der Beobachtungszeit mehr als ein Ereignis. 133 (71.9%) der XLT-Patienten waren ereignisfrei.

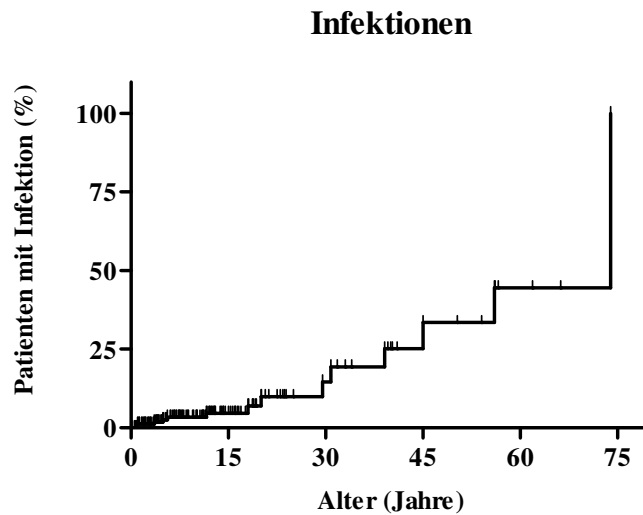
3.1.3 Kumulative Inzidenzen XLT-assoziiertes Komplikationen

3.1.3.1 Infektionen

Drei Patienten hatten in der Beobachtungszeit keine Infektionen, 71 Personen hatten keine erhöhte Infektanfälligkeit, 80 Patienten berichteten milde Infektionen ohne Chronifizierung, bei 17 Patienten wurden moderate Infektionen diagnostiziert. Für 14 Patienten (7.6%) wurden insgesamt 18 schwere Infektionen dokumentiert, darunter drei mit tödlichem Ausgang (siehe Tabelle 7). Das mediane Alter bei Diagnose lag bei 19.0 Jahren (1.0-73.9). Die Infektionen waren größtenteils bakteriell bedingt. Drei Patienten hatten im Verlauf mehr als ein Infektionsereignis. 44.4% der schweren Infektionen traten bei Patienten nach Splenektomie auf. Abbildung 5 stellt die kumulative Inzidenzrate schwerer Infektionsereignisse in der Kohorte graphisch dar (n=185).

Infektion (Lokalisation)	Ereignisse gesamt	nach Splenektomie	letal
Salmonellose	1	1	1
Pulmonal (Pneumonie, Tuberkulose)	7	2	0
Bakterielle Meningitis	5	4	0
Sepsis	4	3	2
Orchitis	1	0	0
Ereignisse gesamt	18	10	3
Patienten gesamt	14	8	3

Tabelle 7: Schwere Infektionsereignisse in der Kohorte



verfügbare Patienten: 185 67 28 14 6 0

Abbildung 5: Kumulative Inzidenz schwerer Infektionen

Für die Analyse des natürlichen Verlaufs von Infektionen wurde der Datensatz zusätzlich für Splenektomie zensiert, da dieser Eingriff das Risiko für infektiöse Komplikationen überproportional erhöhte. Somit erscheinen in Abbildung 6 nur Infektionen bei Nicht-Splenektomierten oder solche, die vor Splenektomie aufgetreten sind.

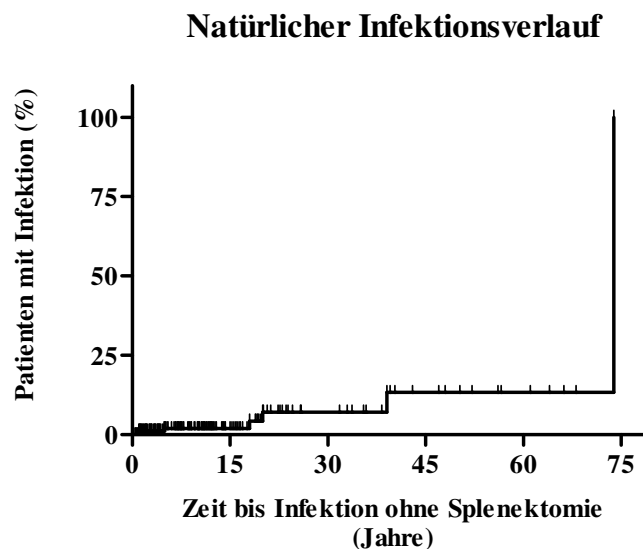


Abbildung 6: Kumulative Inzidenz schwerer Infektionen ohne Splenektomie

3.1.3.2 Blutungen

Insgesamt 36 Patienten hatten keine Blutungen, 121 berichteten über eine milde Blutungsneigung, vorwiegend unter dem Bild von Petechien. Moderate Blutungsneigung wurde für zwei Patienten beschrieben. Bei 26 Patienten (14.1%) wurden insgesamt 35 Episoden schwerer Blutungsereignisse dokumentiert, fünf dieser Blutungen verliefen tödlich (siehe Tabelle 8). Der Anteil der intrakraniellen Blutungen betrug 51.4%. Das mediane Alter bei Eintritt einer schweren Blutung lag bei 5.2 (0.0-74.6) Jahren. Mit einer Ausnahme ereigneten sich alle Blutungen vor dem 30. Lebensjahr. Fünf Hämorrhagien traten bei zwei splenektomierten Patienten auf, einer der beiden verstarb daran. Eine Post-Splenektomie-ITP war in beiden Fällen nicht bekannt. Abbildung 7 zeigt die Kurve der kumulativen Inzidenz für schwere Blutungsereignisse in der Kohorte (n=185).

Blutung mit Lokalisation	Ereignisse gesamt	letal
intrakraniell	18	3
gastrointestinal	8	1
HNO	4	0
pulmonal	2	1
traumatisch	2	0
retinal	1	0
Ereignisse gesamt	35	5
Patienten gesamt	26	5

Tabelle 8: Schwere Blutungsereignisse in der Kohorte

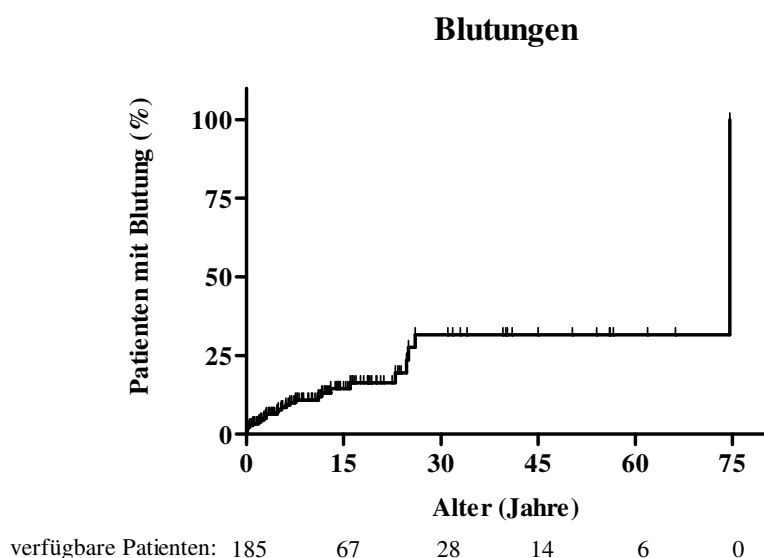


Abbildung 7: Kumulative Inzidenz schwerer Blutungsereignisse

Die Thrombozyten zum Zeitpunkt der schweren Blutung lagen durchschnittlich bei $21000 \cdot 10^9/l$ ($<500-80000 \cdot 10^9/l$). Es gab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Thrombozytopenie und der Inzidenz schwerer Blutungsereignisse (14.3% der Patienten mit milder, 9.3% mit moderater und 18.3% mit schwerer Thrombozytopenie erlitten Blutungen, $p=0.32$).

Behandelt wurde meist mit Erythrozytenkonzentraten, bei einigen Patienten wurden auch Thrombozytenkonzentrate verabreicht. Bei einem Patienten mit Subduralblutung wurde zusätzlich ein Therapieversuch mit Glukokortikoiden und intravenös verabreichten Immunglobulinen unternommen.

Vier Patienten hatten mehr als ein Blutungsereignis: ein Patient durchlebte sechs Episoden intrakranieller Blutungen, jeweils bei ausgeprägter Thrombozytopenie. Ein Patient erlitt eine Milzruptur, eine intrakranielle Blutung und eine schließlich letal verlaufende Lungenblutung. Der Dritte hatte drei Episoden intrakranieller Blutungen, eine davon nach Transplantation.

3.1.3.3 Malignome

Insgesamt traten in der Kohorte zehn Malignome bei neun Patienten (4.9%) auf (siehe Tabelle 9). Das mediane Alter bei Diagnosestellung lag bei 34.0 (7.8-74.0) Jahren. Die Hälfte der Malignome war lymphatischen Ursprungs. Die tumorbedingten Todesfälle ereigneten sich bei einem Patienten mit dem B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom ca. sieben Monate nach Diagnosestellung und bei einem Patienten mit Pankreas-Karzinom. Abbildung 8 stellt die kumulative Inzidenzrate an Tumorerkrankungen in der Kohorte (n=185) dar.

Malignom	Ereignisse gesamt	letal
Lymphom	3	1
EBV-LPD	1	0
MDS	1	0
Spinaliom	2	0
Seminom (mediastinal)	1	0
ALL	1	0
Pankreas-Karzinom	1	1
Ereignisse gesamt	10	2
Patienten gesamt	9	2

Tabelle 9: Malignome in der Kohorte

Legende: EBV-LPD: Epstein-Barr-Virus assoziierte lymphoproliferative Disorder; MDS: myelodysplastisches Syndrom; ALL: akute lymphatische Leukämie

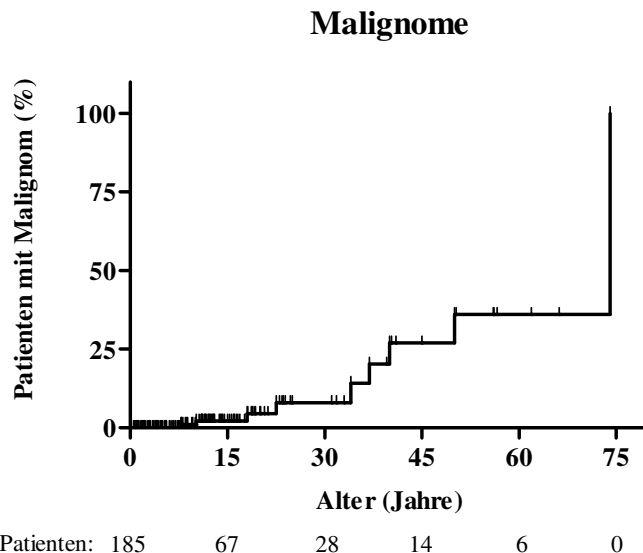


Abbildung 8: Kumulative Inzidenz maligner Tumorerkrankungen

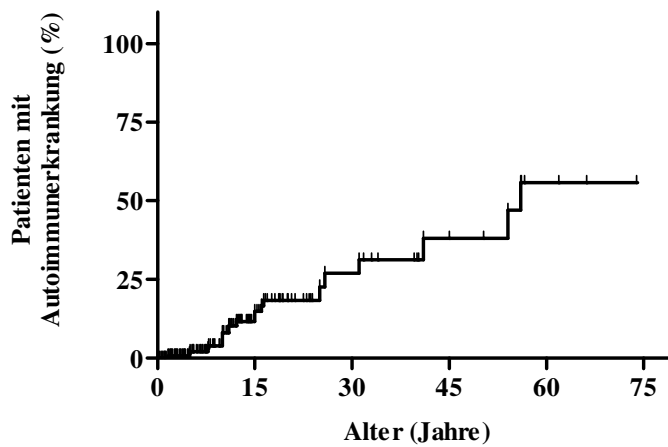
3.1.3.4 Autoimmunerkrankungen

Insgesamt wurde bei 22 Personen (11.9%) eine Autoimmunerkrankung festgestellt (siehe Tabelle 10). Das mediane Alter bei Diagnosestellung lag bei 11.6 (1.6-56.0) Jahren. Die größte Subgruppe bildeten Autoimmun-Nephropathien (IgA-Nephritis) mit einer deutlichen Häufung bei japanischen Patienten (5/29 versus 4/156; $p=0.005$).

Die zweitgrößte Gruppe stellten autoimmunhämolytische Anämien. Zwei der Patienten mit AIHA entwickelten im Verlauf ein Malignom. Relativ häufig waren Vaskulitiden (darunter auch Purpura Schönlein-Henoch) und immun-thrombozytopenische Purpura, welche sich bei einem der vier Betroffenen knapp vier Jahre nach Splenektomie entwickelt hatte. Drei Patienten litten an mehreren Autoimmunerkrankungen: bei einem waren AIHA und Vaskulitis gekoppelt, beim zweiten AIHA und Nephropathie. Der dritte Patient litt gleichzeitig an AIHA, IgA-Nephritis, Purpura Schönlein-Henoch und Arthritis.

Abbildung 9 zeigt die kumulative Inzidenz der Autoimmunerkrankungen in der Studiengruppe ($n=185$).

Autoimmunerkrankungen



verfügbare Patienten: 185 67 28 14 6 0

Abbildung 9: Kumulative Inzidenz von Autoimmunerkrankungen

Autoimmunerkrankungen	Ereignisse gesamt	letal
Nephropathie	9	0
AIHA	6	0
Vaskulitis	4	0
ITP	4	0
Arthritis	3	0
Kolitis	1	0
Ereignisse gesamt	27	0
Patienten gesamt	22	0

Tabelle 10: Autoimmunerkrankungen in der Kohorte

3.2 Analyse von Prognoseparametern

3.2.1 Einfluss des klinischen WAS-Score auf den klinischen Verlauf

3.2.1.1 Vergleich des Outcome zwischen Patienten mit Score 1 oder 2

Die Zuteilung zu einem klinischen Score erfolgte nach den oben beschriebenen Kriterien. Für die Erteilung eines Score von eins durfte kein Ekzem vorliegen. Milde und moderat ausgeprägte Ekzemvarianten wurden dem Score von zwei zugewiesen. Schweres Ekzem war ein Ausschlusskriterium.

Ziel war es, herauszufinden, ob es einen relevanten Unterschied in der Wahrscheinlichkeit des Gesamt- und ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit einem Score von eins (n=64) oder zwei (n=93) gibt.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Gesamt- (Abbildung 10, $p=0.29$) oder ereignisfreien Überleben (Abbildung 11, $p=0.65$).

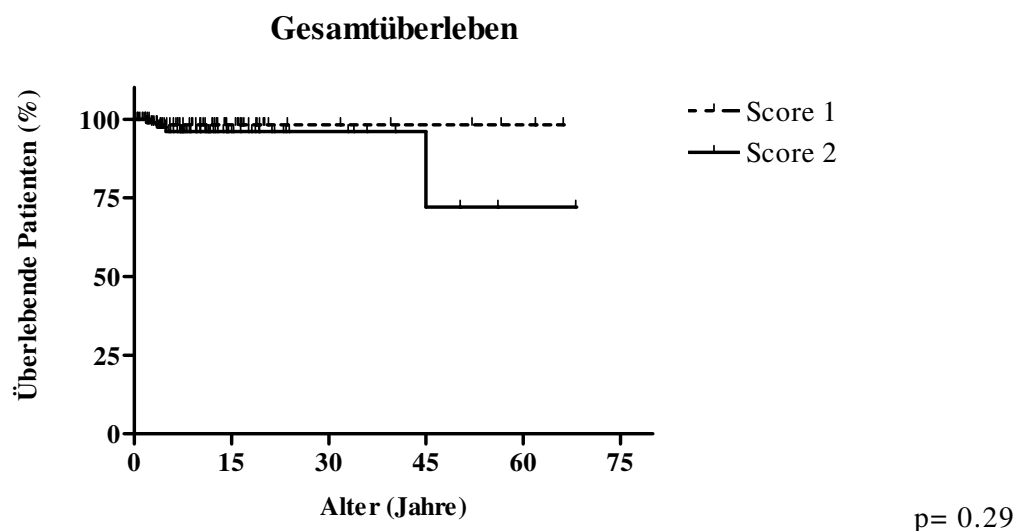


Abbildung 10: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit Score 1 oder 2

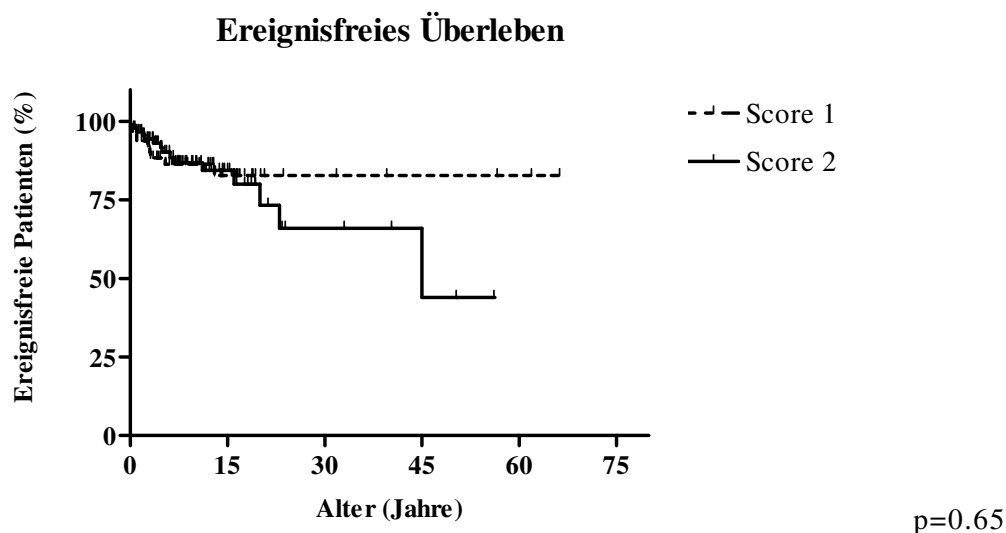


Abbildung 11: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit Score 1 oder 2

3.2.1.2 Vergleich von Score 1|2 mit Score 5

Der Übergang in einen Score von 5 erfolgte bei Entwicklung maligner Tumore oder Autoimmunität. 28 Patienten verzeichneten einen Progress von Score 1 zu 5 (n=9) oder 2 zu 5 (n=19).

Eine wichtige Fragestellung bestand darin, den Einfluss einer Progredienz des klinischen Scores auf das Gesamtüberleben zu untersuchen. Dafür wurden zwei Gruppen gebildet, Patienten mit einem Score von 1 und 2 (n=157) wurden mit XLT-Patienten (n=28) verglichen, die im Verlauf einen Score von fünf entwickelten. Im Gesamtüberleben zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (Abbildung 12, p=0.44).

Selbstverständlich gibt es einen signifikanten Unterschied im ereignisfreien Überleben zwischen den beiden Gruppen (Abbildung 13, p<0.0001), da jeder Patient in der Vergleichsgruppe mit Score 5 mindestens eine schwere Komplikation (Autoimmunität oder Malignom) erlitten hat. Das mediane Lebensalter beim Übergang von 1|2 nach 5 war 15.0 Jahre.

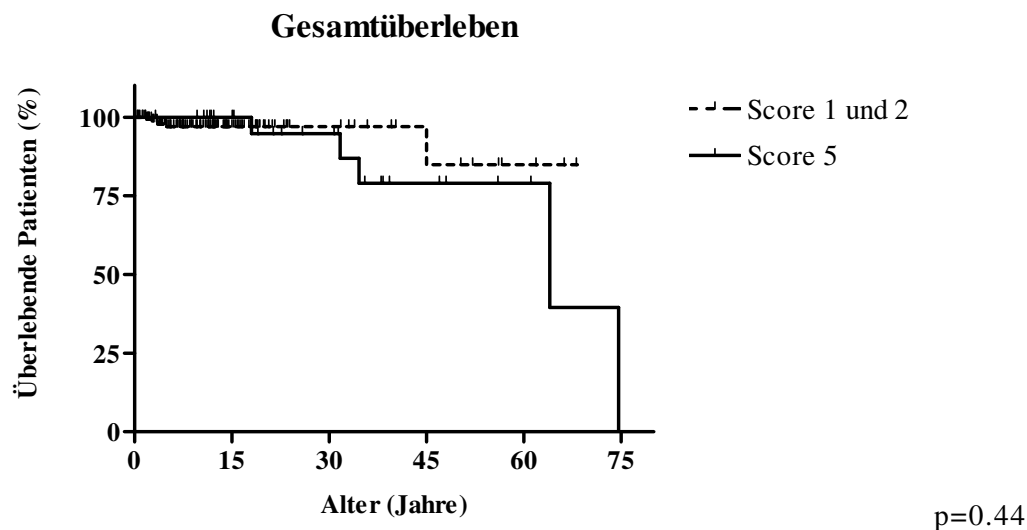


Abbildung 12: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit Score 1|2 oder 5

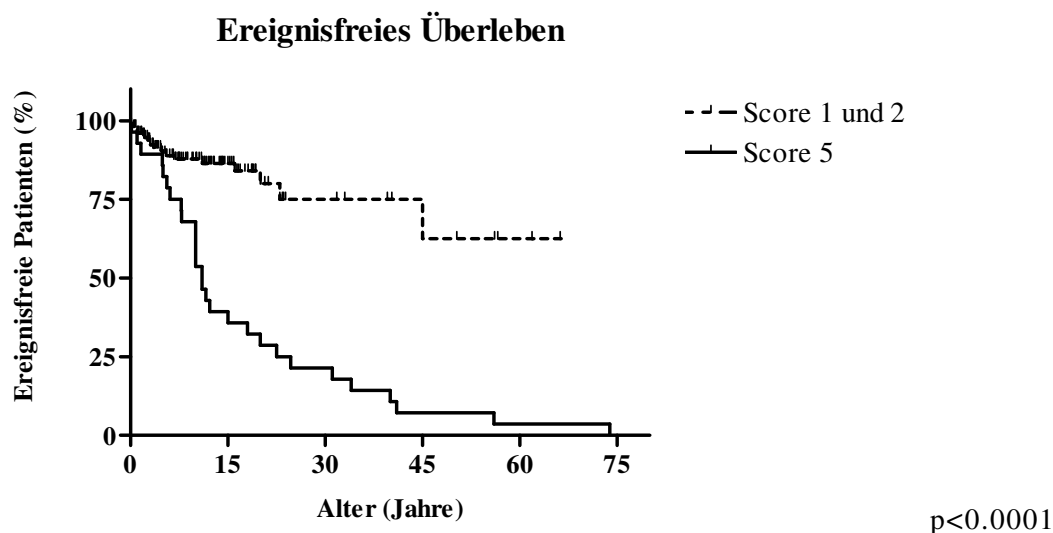


Abbildung 13: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit Score 1|2 oder 5

3.2.2 Einfluss verschiedener Mutationen auf den klinischen Verlauf

Ziel der Mutationsanalyse war es zum einen, herauszufinden, ob eine Häufung von bestimmten Mutationstypen oder sogar Hotspots auszumachen ist und zum anderen die Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen dem klinischen Phänotyp und bestimmten Mutationen.

Insgesamt trugen wir 63 verschiedene Mutationen von 185 Patienten aus 136 nicht verwandten Familien zusammen (siehe Tabelle 11, S. 37-39).

Drei Hotspots konnten identifiziert werden, definiert als über zehn nicht verwandte Patienten mit entweder der identischen Mutation oder mit Mutationen, welche dieselbe Aminosäure-Position im Protein betreffen. Zwei dieser Hotspots befanden sich in Exon 2 (p.Val75Met/Leu, 26 Patienten, p.Arg86Gly/Cys/His/Leu, 34 Patienten), der dritte war im Intron 6 lokalisiert (c.559+5G>A, p.fs X190/normal, 20 Patienten).

Der Großteil der Mutationen befand sich in Exon 1 (10.8%) und Exon 2 (53.5%). Die zweitgrößte Gruppe befand sich in nicht-kodierenden Abschnitten (18.9%). Die restlichen 16.8% verteilten sich auf die übrigen Exons.

Bezüglich der Verteilung der Mutationstypen dominierten Missense-Mutationen (69.2%). Splice-Site-Mutationen bildeten die zweite Hauptgruppe mit 18.9%. 4.8% der Defekte wurden durch Deletionen verursacht. Insertionen (3.8%), Nonsense-Mutationen (2.2%) und No-Stop-Mutationen (1.1%) machten einen nur kleinen Teil aus.

Abbildung 14 stellt die Verteilung der Mutationen der XLT-Kohorte graphisch dar.

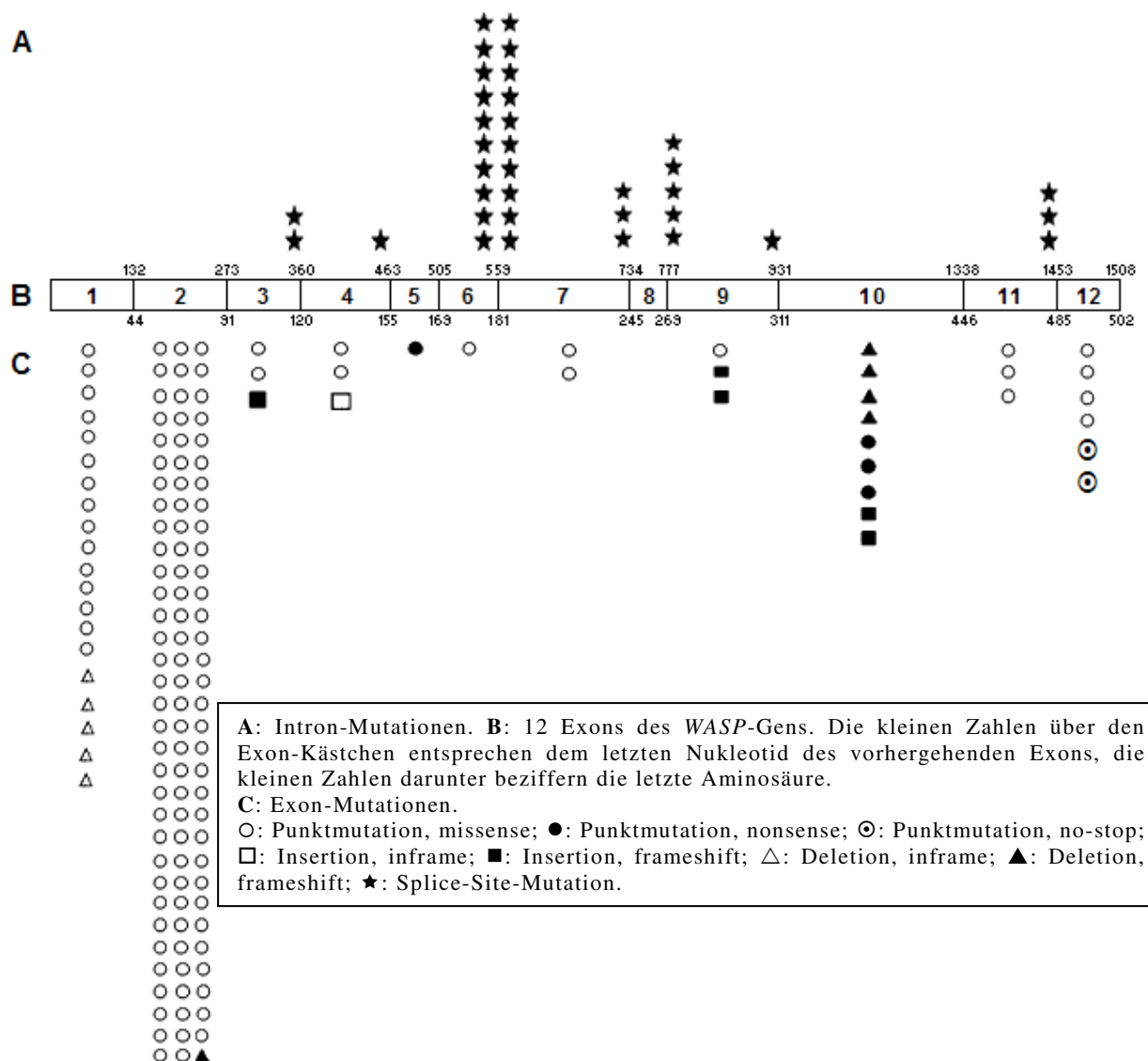


Abbildung 14: Verteilung der XLT-Mutationen der Studienteilnehmer im *WASP*-Gen

3.2.2.1 Vergleich von Mutationen im Exon 1/2 mit den übrigen Mutationen

Um zu untersuchen, ob Patienten mit Mutationen in den ersten Exons eher einen milderen Phänotyp aufweisen als Patienten mit Mutationen in anderen Abschnitten des *WASP*-Gens, bildeten wir je eine Gruppe mit Mutationsträgern in den beiden ersten Exons ($n=119$) und eine Vergleichsgruppe mit den übrigen Patienten ($n=66$). Weder in der Analyse des Gesamtüberlebens (siehe Abbildung 15, $p=0.65$) noch des ereignisfreien Überlebens (siehe Abbildung 16, $p=0.09$) zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

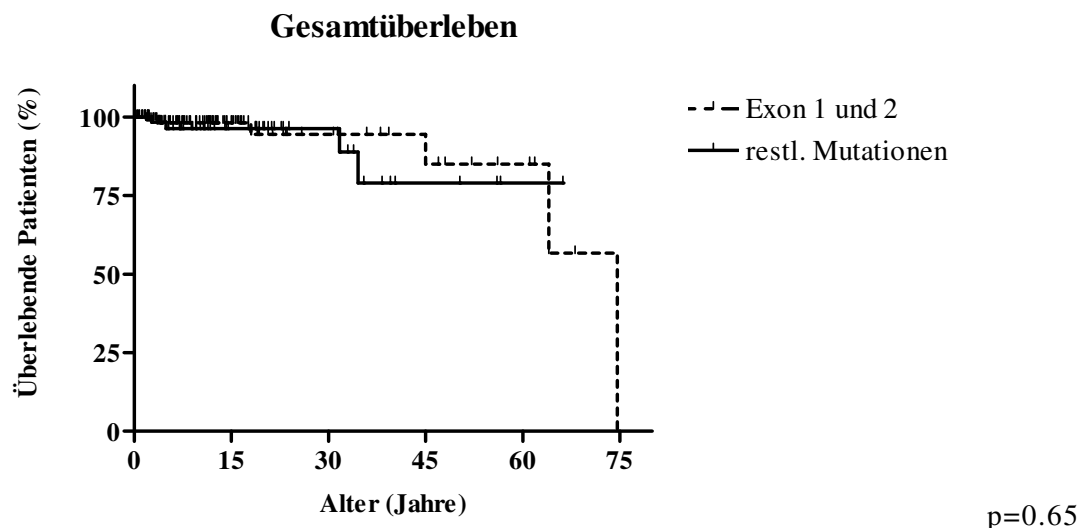


Abbildung 15: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit Exon 1|2- und den restlichen Mutationen

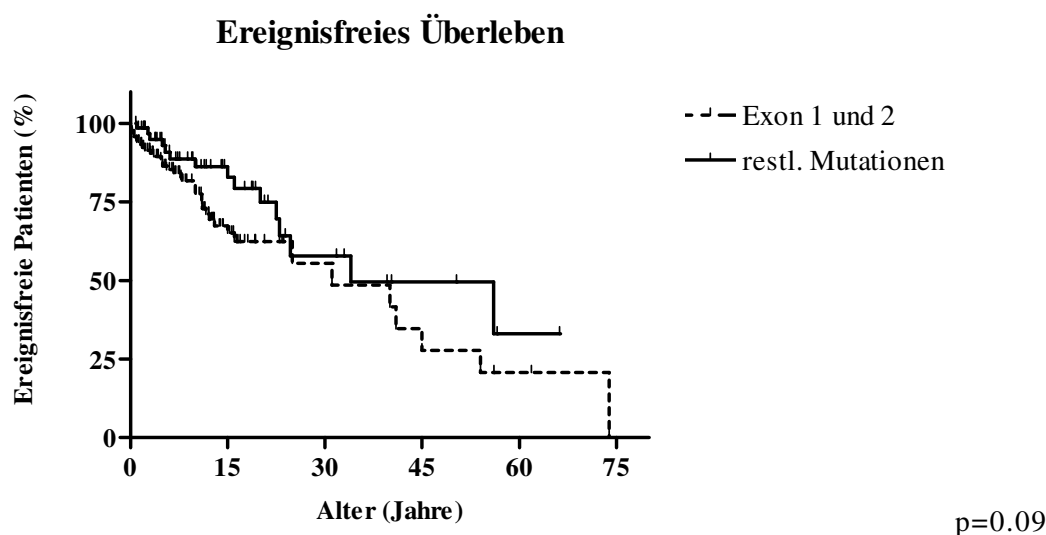


Abbildung 16: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit Exon 1|2 und den restlichen Mutationen

3.2.2.2 Vergleich von Hotspots mit den übrigen Mutationen

Ein besonderes Interesse galt der Analyse der Hotspots. 80 Patienten trugen Mutationen in einem der drei identifizierten Hotspots der Kohorte, die anderen 105 Patienten verteilten sich auf die übrigen Abschnitte.

Bezüglich des Gesamtüberlebens fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Hotspot- und anderen Mutationen (siehe Abbildung 17, $p=0.46$); auch das ereignisfreie Überleben unterschied sich nicht signifikant voneinander (siehe Abbildung 18, $p=0.68$).

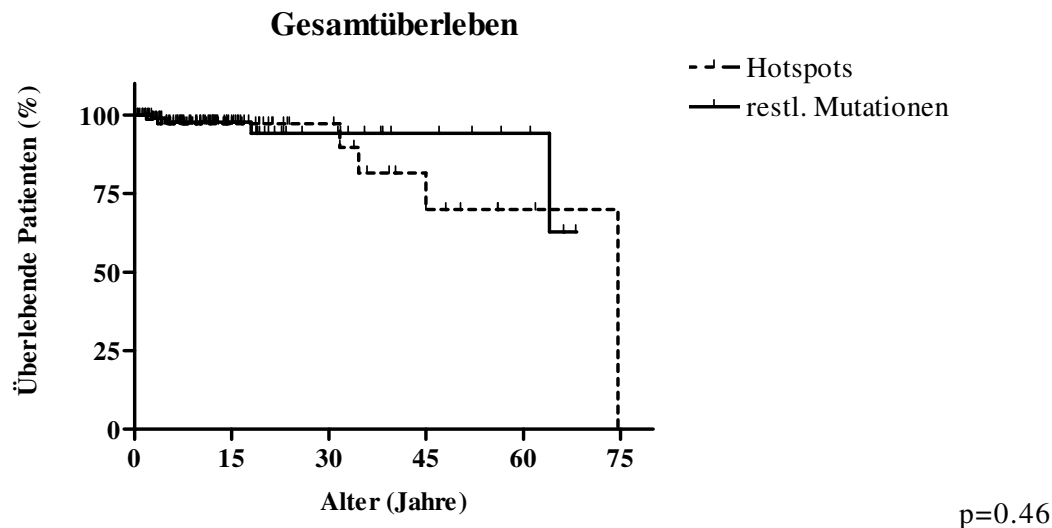


Abbildung 17: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit Hotspot- und den restlichen Mutationen

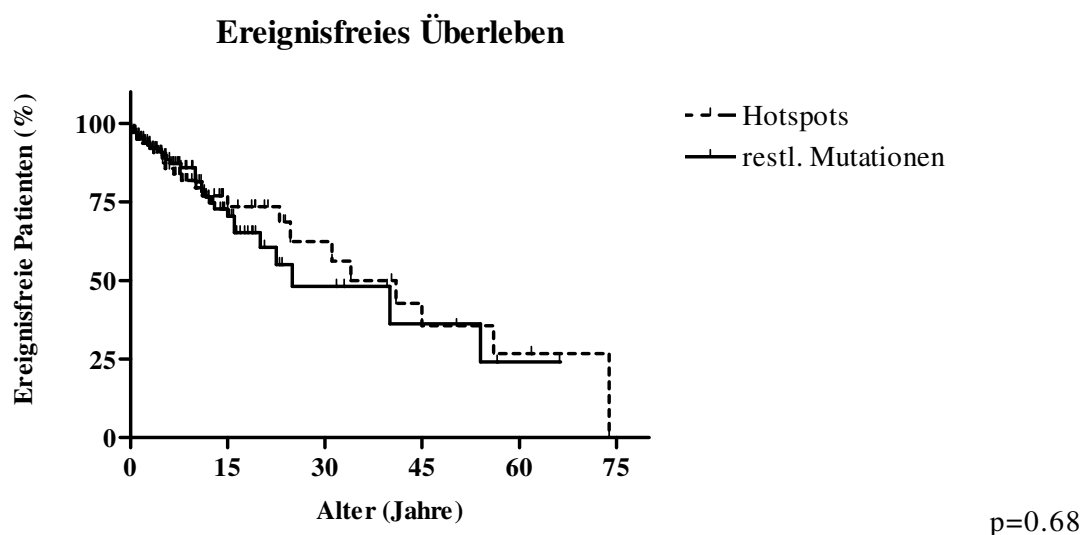


Abbildung 18: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit Hotspot- und den restlichen Mutationen

3.2.2.3 Vergleich von Exon- mit Intron-Mutationen

In unserer Kohorte trugen 150 Patienten Mutationen in einem der zwölf Exons, 35 in nicht-kodierenden Abschnitten (Introns).

Es zeigte sich weder in der Analyse des Gesamtüberlebens (siehe Abbildung 19, $p=0.26$) noch in der Analyse des ereignisfreien Überlebens ein signifikanter Unterschied (siehe Abbildung 20, $p=0.64$) zwischen diesen beiden Gruppen.

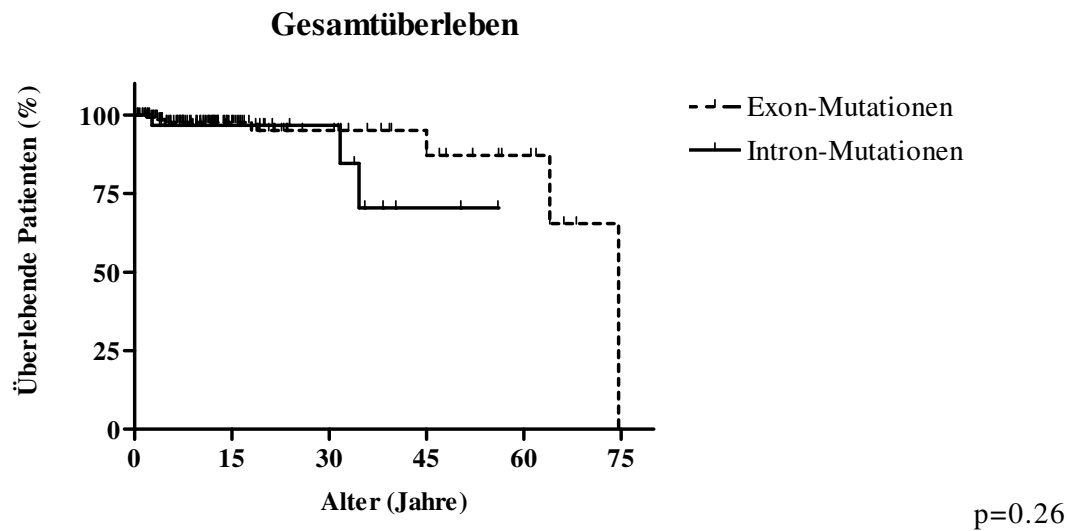


Abbildung 19: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit Exon- und Intron-Mutationen

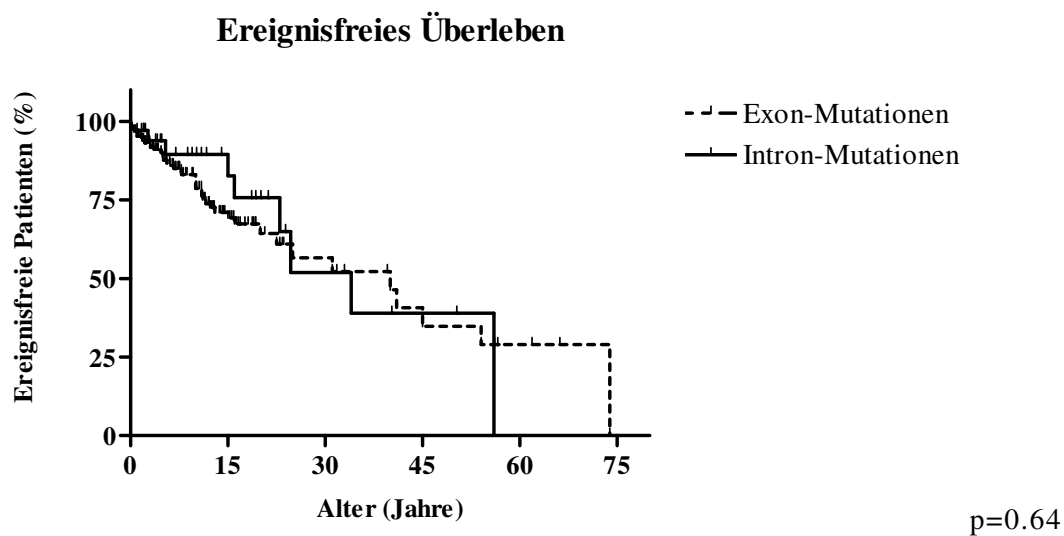


Abbildung 20: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit Exon- und Intron-Mutationen

Exon	c DNA-Mutation	Erwartete Protein-Alteration	Mutationstyp	Patienten	Familien	Herkunft (n)	WASP-Expression (n)	Score (n)
1	c.G5C	p.Ser2Thr	Missense	1	1	Fr	n.u.	2
1	c.G18A	p.Met6Ile	Missense	2	1	JPN	vermindert (2)	1, 2→5M
1	c.C71T	p.Ser24Phe	Missense	2	2	USA (1), JPN (1)	vermindert (1), n.u. (1)	1, 2→5A
1	c.C79T	p.Leu27Phe	Missense	1	1	USA	vermindert	1
1	c.88_90delCAC	p.His30del	Deletion	5	2	UK (4), Ger (1)	vermindert (3), n.u. (2)	1(4), 2
1	c.G91A	p.Glu31Lys	Missense	3	3	USA (2), Italien (1)	vermindert (2), abwesend (1)	1, 2, 2→5A
1	c.T116C	p.Leu39Pro	Missense	6	4	USA (3), Italien (2), Ger (1)	vermindert (5), abwesend (1)	1, 1→5A/M, 2(4)
2	c.C134A	p.Thr45Lys	Missense	1	1	Italien	vermindert	2→5A
2	c.C134T	p.Thr45Met	Missense	13	8	JPN (4), USA (2), Ger (1), UK (1), Sw (5)	vermindert (6), abwesend (1), n.u. (6)	1(6), 1→5A, 2(4), 2→5A /B (2)
2	c.C140A	p.Ala47Asp	Missense	1	1	USA	vermindert	2
2	c.A142G	p.Thr48Ala	Missense	1	1	JPN	vermindert	2
2	c.C143T	p.Thr48Ile	Missense	1	1	USA	vermindert	1→5M
2	c.C167T	p.Ala56Val	Missense	5	4	USA (3), Italien (1), JPN (1)	vermindert (4), n.u. (1)	1(3), 1→5A, 2
2	c.C172A	p.Pro58Thr	Missense	2	1	USA	normal (2)	1, 2
2	c.C172G	p.Asp58Ala	Missense	1	1	USA	vermindert	2→5A/M
2	c.C173G	p.Pro58Arg	Missense	3	1	Italien	vermindert (2), n.u. (1)	1, 1→5M, 2
2	c.G199A	p.Glu67Lys	Missense	2	1	Fr	vermindert (1), n.u. (1)	2(2)
2	c.G223A	p.Val75Met	Missense	25	18	Fr (8), UK (5), USA (5), Ger (2), JPN (2), Sp (2), Italien (1)	normal (1), vermindert (11), abwesend (3), n.u. (10)	1(6), 1→5A, 2(17), 2→5A
2	c.G223T	p.Val75Leu	Missense	1	1	USA	n.u.	2
2	c.A227C	p.Lys76Thr	Missense	2	2	USA	vermindert (1), n.u. (1)	2(2)
2	c.G229C	p.Asp77His	Missense	1	1	Italien	vermindert	1
2	c.A230G	p.Asp77Gly	Missense	2	1	Italien	vermindert (2)	1, 2
2	c.A239G	p.Gln80Arg	Missense	1	1	Rus	vermindert	2
2	c.248insA	p.Tyr83X	Insertion	1	1	Fr	n.u.	2
2	c.C256G	p.Arg86Gly	Missense	1	1	USA	vermindert	2→5A
2	c.C256T	p.Arg86Cys	Missense	24	18	USA (10), Ger (6), JPN (3), UK (3), Italien (1), Sw (1)	normal (3), vermindert (9), n.u. (12)	1(10), 1→5M, 2(12), 2→5A
2	c.G257A	p.Arg86His	Missense	8	8	JPN (2), Fr (1), Ger (1), Isr (1), Rus (1), UK (1), USA (1)	vermindert (5), abwesend (1), n.u. (2)	1→5A, 2(5), 2→5A(2)
2	c.G257T	p.Arg86Leu	Missense	1	1	USA	abwesend	2

Exon	c DNA-Mutation	Erwartete Protein-Alteration	Mutationstyp	Patienten	Familien	Herkunft (n)	WASP-Expression (n)	Score (n)
2	c.A263G	p.Tyr88Cys	Missense	1	1	NL	n.u.	2→5A
2	c.G266A	p.Gly89Asp	Missense	1	1	UK	normal	1
3	c.A320G	p.Tyr107Cys	Missense	1	1	USA	vermindert	2
3	c.326_330insC	p.Thr111HisfsX9	Insertion	1	1	USA	abwesend	2
3	c.G355A	p.Gly119Arg	Missense	1	1	NL	n.u.	1
4	c.dup355_361	p.Asp121insGD	Insertion	1	1	JPN	abwesend	2
4	c.G399T	p.Glu133Asp	Missense	1	1	USA	vermindert	2
4	c.G413A	p.Arg138Gln	Missense	1	1	USA	vermindert	2
5	c.G505T	p.Asn169X	Nonsense	1	1	JPN	vermindert	2→5M
6	c.G538A	p.His180Asn	Missense	1	1	Italien	vermindert	1
7	c.C707G	p.Ala236Gly	Missense	1	1	Italien	abwesend	1
7	c.A724T	p.Ser242Cys	Missense	1	1	NL	n.u.	1
9	c.854_855insG	p.Thr286AspfsX1	Insertion	2	1	UK	vermindert und trunziert (1), abwesend (1)	1(2)
9	c.A919G	p.Met307Val	Missense	1	1	Ger	n.u.	2
10	c.C961T	p.Arg321X	Nonsense	1	1	JPN	abwesend	2→5M
10	c.983_984delC	multiple Produkte	Deletion	1	1	USA	vermindert und trunziert	2
10	c.991insA	p.Gly334X	Insertion	2	1	USA	abwesend (2)	1, 2
10	c.1073_1074delGA	p.Gly358AlafsX135	Deletion	1	1	USA	vermindert und trunziert	2
10	c.1079delC	p.Pro360HisfsX84	Deletion	2	2	Ger, JPN	vermindert (1), abwesend (1)	2(2)
10	c.C1090T	p.Arg363X	Nonsense	2	1	Fr	n.u. (2)	2(2)
11	c.G1430A	p.Arg477Lys	Missense	1	1	Sp	vermindert	2
11	c.T1442A	p.Ile481Asn	Missense	2	1	Italien	normal (1), vermindert (1)	1(2)
12	c.G1453A	p.Asp485Asn	Missense	1	1	USA	vermindert	2→5A
12	c.A1454G	p.Asp485Gly	Missense	3	1	Sp	n.u. (3)	1(3)
12	c.G1508C	p.X503SerextX76	No-stop	2	1	USA	abwesend (1), n.u. (1)	2(2)
Int 3	c.360+1G>A	p.Ala92_Asp120del	Spleißmutation (Donor-Seite)	1	1	JPN	vermindert	2
Int 3	c.361-1G>A	p.fsX201	Spleißmutation (Akzeptor-Seite)	1	1	USA	vermindert	2
Int 4	c.[463+1_463+8del; 464-3_464-2insG]	p.fsX178/fsX251	Spleißmutation (Donor +Akzeptor-Seite)	1	1	JPN	vermindert	2
Int 6	c.559+5G>A	70% fsX190/30% normal	Spleißmutation (Donor-Seite)	20	12	USA (10), Ger (6), JPN (3), UK (1)	vermindert (13), abwesend (1), n.u. (6)	1(7), 1→5M, 2(9), 2→5A(3)

Exon	c DNA-Mutation	Erwartete Protein-Alteration	Mutationstyp	Patienten	Familien	Herkunft (n)	WASP-Expression (n)	Score (n)
Int 7	c.735-25A>C	n.u.	Spleißmutation (Akzeptor-Seite)	3	1	UK	vermindert (3)	1(3)
Int 8	c.777+1G>A	p.fsX246	Spleißmutation (Donor-Seite)	2	2	Aus, USA	abwesend (1), n.u. (1)	1, 2
Int 8	c.777+3insT	n.u.	Spleißmutation (Donor-Seite)	2	1	Italien	vermindert (2)	1, 2
Int 8	c.778-6G>A	n.u.	Spleißmutation (Akzeptor-Seite)	1	1	UK	vermindert	1
Int 9	c.(931_932)ins250	n.u.	Spleißmutation	1	1	JPN	vermindert	1
Int 11	c.(1484_1485)ins118	normale und veränderte Spleiß-Produkte	Spleißmutation	3	2	JPN	vermindert (3)	2, 2→5A(2)
Σ				185	136			

Tabelle 11: Mutationen und deren Effekt auf Proteinexpression und klinischen Phänotyp

Legende: Aus: Australien, D: Deutschland, Fr: Frankreich, Int: Intron, Isr: Israel, JPN: Japan, NL: Niederlande, n.u.: nicht untersucht, Rus: Russland, Sp: Spanien, Sw: Schweden, UK: Großbritannien, USA: Vereinigte Staaten von Amerika; (n): Anzahl der Patienten; 1→5: Progress im WAS-Score von 1 zu 5, entweder aufgrund von A: Autoimmunerkrankung oder M: Malignom.

3.2.3 Einfluss der WASP-Expression auf den klinischen Verlauf

Von 128 Patienten lagen Ergebnisse zur Proteinanalytik vor: 106 Patienten waren WASP-positiv, d.h. sie exprimierten das Protein entweder vollständig oder ein Protein unveränderter Länge, jedoch in verminderter Menge. Bei 22 Patienten waren die Tests negativ, d.h. es konnte entweder gar kein Protein nachgewiesen werden, oder es wurde abnormes instabiles Protein mit veränderter Länge und/oder deformierter Struktur exprimiert (siehe Tabelle 12). Die Tests wurden bei 95 Patienten mittels Western Blot durchgeführt, in 26 Fällen wurde dazu das FACS genutzt. Bei vier Patienten liegen zwar Ergebnisse vor, die jeweilige Methode konnte aber nicht eruiert werden. In drei Fällen wurden beide Verfahren angewandt.

Score	WASP-positiv	WASP-negativ	Nicht untersucht	Gesamt
1	38	6	20	64
2	52	12	29	93
1 zu 5	5	0	4	9
2 zu 5	11	4	4	19
Gesamt	106 (57.3%)	22 (11.9%)	57 (30.8%)	185

Tabelle 12: WASP-Expression in der Kohorte

In der Analyse des Gesamt- (siehe Abbildung 21, $p=0.74$) und ereignisfreien Überlebens (siehe Abbildung 22, $p=0.61$) zeigte sich zwischen Patienten mit und ohne Protein-Expression kein signifikanter Unterschied.

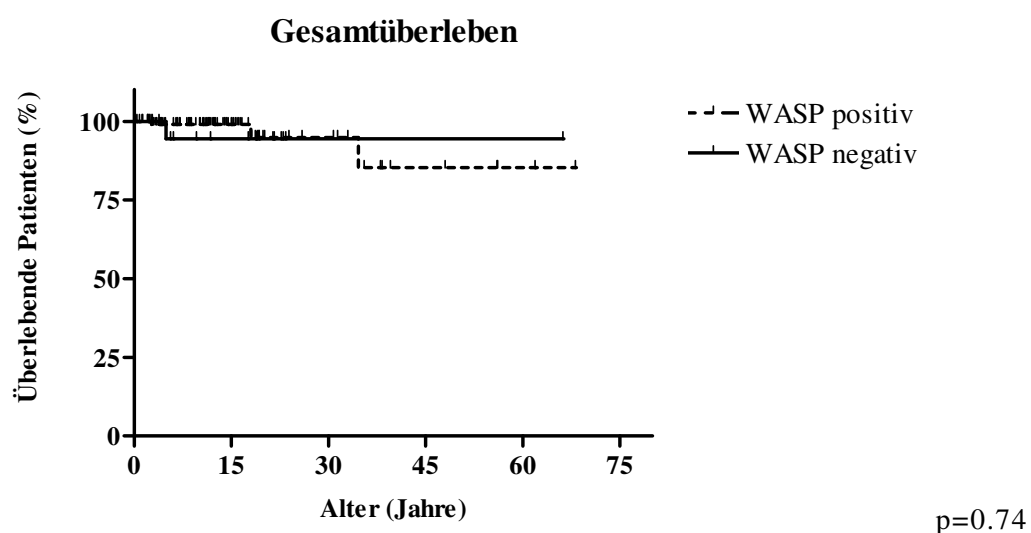


Abbildung 21: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen WASP-positiven und WASP-negativen Patienten

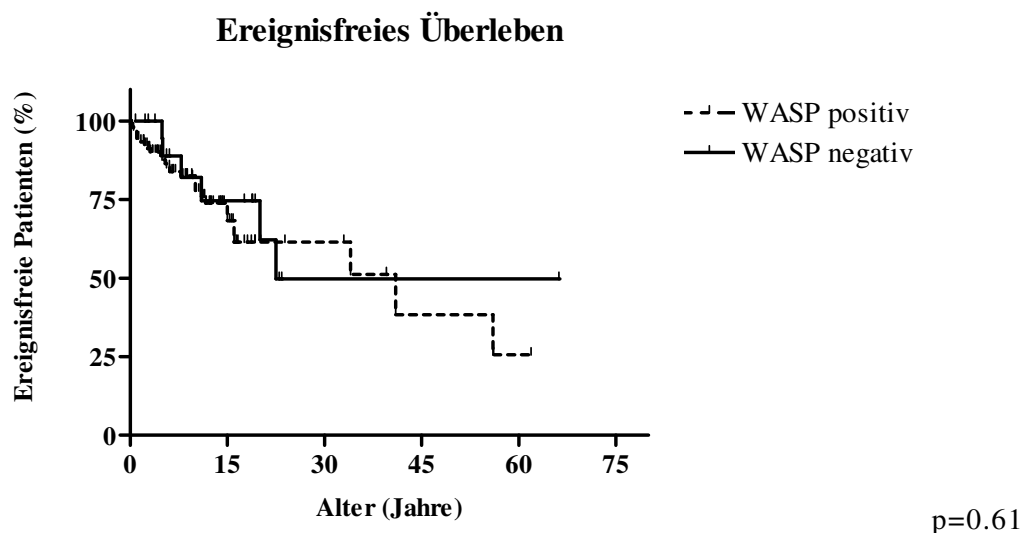


Abbildung 22: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen WASP-positiven und WASP-negativen Patienten

3.3 Analyse des Einflusses verschiedener Therapieoptionen

3.3.1 Einfluss von prophylaktischer IVIG-Therapie auf den klinischen Verlauf

Bei der Analyse des Einflusses von Immunglobulin-Therapie auf den Krankheitsverlauf wurden alle Patienten, die im Beobachtungszeitraum mindestens einmal intravenös oder subkutan mit Immunglobulinen therapiert worden waren, der IVIG-Gruppe zugeordnet. Die Dauer der Therapie war von untergeordneter Bedeutung, die Behandlung musste jedoch mit dem Ziel der Infektionsvermeidung oder zur Therapie eines Antikörpermangels erfolgt sein. Eine einmalige Gabe im Rahmen akuter Blutungsereignisse wurde demzufolge nicht als IVIG-Therapie gewertet. Insgesamt 44 Patienten (23.8%) erhielten intravenös Immunglobuline, einer davon subkutan. Von 16 der 44 Patienten lagen keine Angaben zur Therapiedauer vor. Von 28 Patienten mit detaillierterer Information erhielten sieben Personen intermittierend oder gelegentlich Antikörper, z.B. während der Wintermonate. Sieben Patienten wurden in der Vergangenheit regelmäßig IVIG behandelt, im Median über 4.0 Jahre (0.25-7.0 Jahre). 14 Patienten erhalten aktuell regelmäßig IVIG, im Median seit 13.4 Jahren (3.0-23.0 Jahre). Die übrigen 141 Patienten (76.2%) wurden der Gruppe ohne IVIG zugeordnet.

Zwischen den beiden Gruppen zeigte sich kein Unterschied bezüglich des Gesamtüberlebens (siehe Abbildung 23, $p=0.58$) oder des ereignisfreien Überlebens (siehe Abbildung 24, $p=0.20$). Auch bei Vergleich der kumulativen Inzidenzrate schwerer Infektionsereignisse

zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe mit und ohne Immunglobulin-Substitution (siehe Abbildung 25, $p=0.13$).

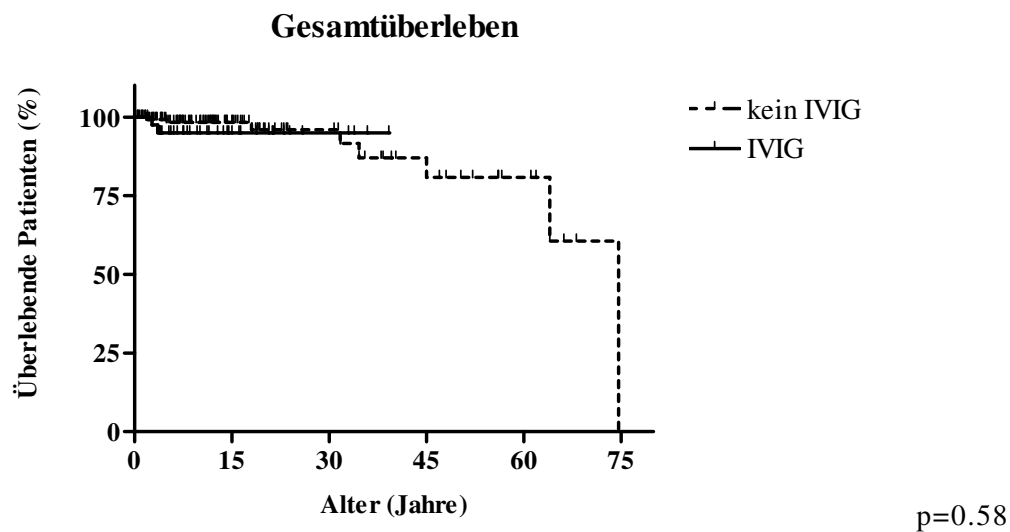


Abbildung 23: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit und ohne IVIG-Therapie

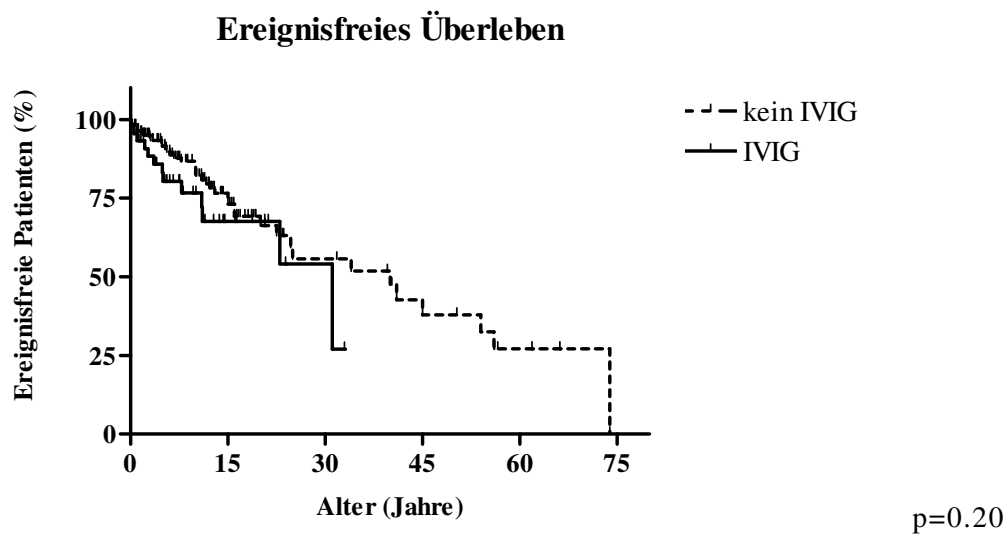


Abbildung 24: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit und ohne IVIG-Therapie

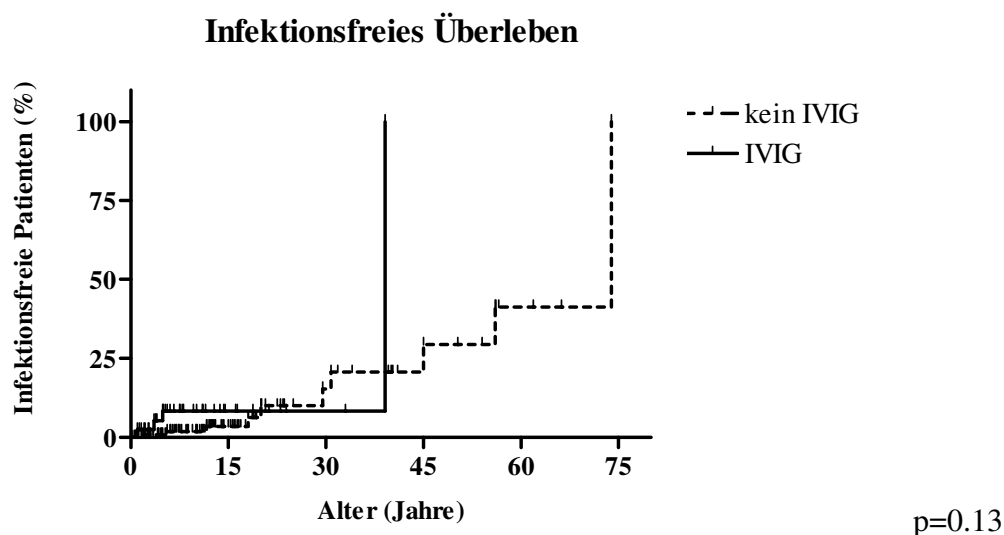


Abbildung 25: Vergleich der kumulativen Inzidenz schwerer Infektionen zwischen Patienten mit und ohne IVIG-Therapie

3.3.2 Einfluss von dauerhafter Antibiotika-Prophylaxe auf den klinischen Verlauf

Wir definierten antibiotische Prophylaxe als eine Therapie, deren Indikation nicht in der Behandlung einer vorhandenen Infektion, sondern in der reinen Infektionsverhütung bestand. Die Dauer der Behandlung spielte dabei nur eine untergeordnete Rolle. 53 Patienten erhielten während der Beobachtungszeit prophylaktisch Antibiotika. Für die Untersuchung des Einflusses von antibiotischer Prophylaxe wurde der Datensatz zusätzlich für Splenektomie zensiert, da die Mehrheit erst nach Milzentfernung wegen angestiegener Infektionsgefahr eine dauerhafte Antibiotika-Therapie erhalten hatte. 123 Patienten hatten im Beobachtungszeitraum keine antibiotische Prophylaxe erhalten, 22 Patienten mit dauerhafter Antibiotika-Therapie stellten die Vergleichsgruppe. Bei elf Patienten liegen keine Angaben zur Dauer der antibiotischen Prophylaxe vor, zwei Patienten erhalten gelegentlich, neun dauerhaft vorbeugende Antibiotika-Gaben, im Median seit 6.0 Jahren. Zwölf der 22 Patienten erhielten zusätzlich eine Behandlung mit Immunglobulinen.

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied bezüglich des Gesamtüberlebens mit einem Überlebensvorteil für die Gruppe ohne dauerhafte antibiotische Therapie (siehe Abbildung 26, $p=0.01$). Der Vergleich des ereignisfreien Überlebens ergab keinen signifikanten Unterschied (siehe Abbildung 27, $p=0.31$). Auch in der kumulativen Inzidenzrate schwerer Infektionsereignisse (siehe Abbildung 28, $p=0.44$) zeigte sich keine Signifikanz. Allerdings fand sich in der Gruppe mit antibiotischer Prophylaxe kein Patient mit einer schweren Infektion, während in der Gruppe ohne Infektionsprophylaxe sechs schwere Infektionen zu verzeichnen waren.

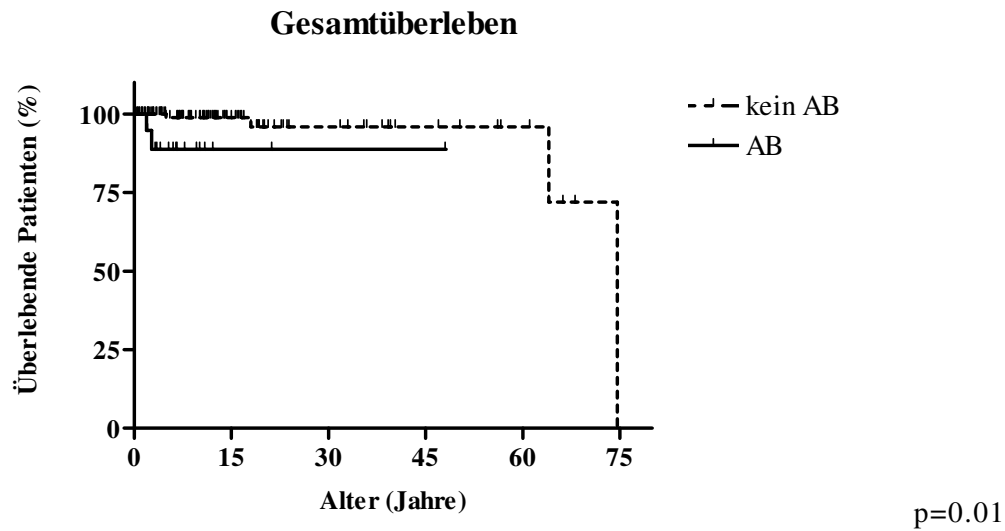


Abbildung 26: Vergleich des Gesamtüberlebens zwischen Patienten mit und ohne antibiotischer Prophylaxe

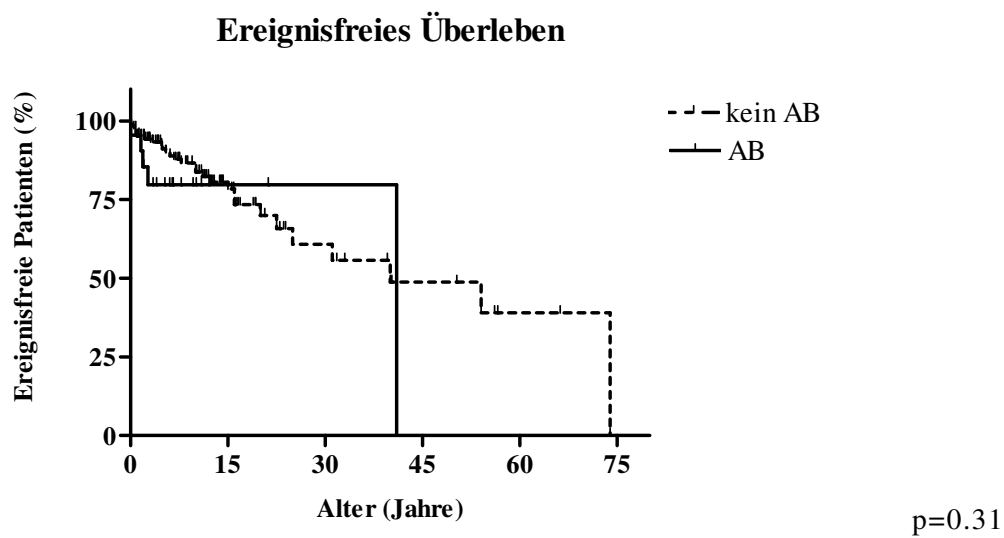


Abbildung 27: Vergleich des ereignisfreien Überlebens zwischen Patienten mit und ohne antibiotischer Prophylaxe

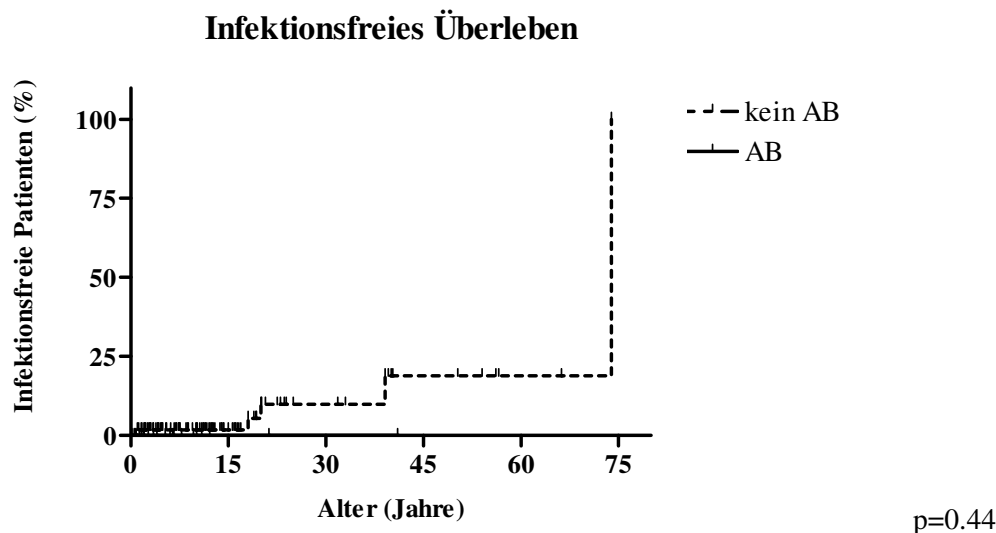


Abbildung 28: Vergleich der kumulativen Inzidenzrate schwerer Infektionen zwischen Patienten mit und ohne antibiotischer Prophylaxe

3.3.3 Einfluss von Splenektomie auf den Krankheitsverlauf

Im Laufe der Beobachtungszeit unterzogen sich 40 Patienten (21.6%) einer operativen Entfernung der Milz. Das mediane Alter bei diesem Eingriff lag bei 7.2 Jahren (0.8-43.0 Jahre), den zeitlichen Verlauf bis zur Splenektomie mit einer Häufung in den ersten 15 Lebensjahren zeigt Abbildung 29.

Postoperativ wurde bei 31 Patienten eine dauerhafte antibiotische Prophylaxe durchgeführt, bei sieben war diese bereits vor Splenektomie eingeleitet worden. Das verwendete Antinfektivum war bei 14 Patienten bekannt: Zehn Patienten erhielten Beta-Laktame, drei Cotrimoxazol und einer Erythromycin. Informationen zu präoperativer Vakzinierung gegen kapselbildende Bakterien lagen bei fünf Patienten vor.

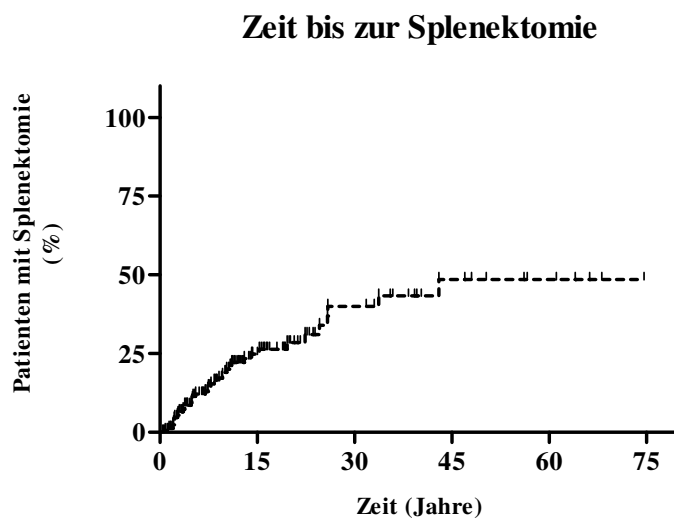


Abbildung 29: Zeit bis zur Splenektomie

27 der 40 Patienten (67.5%) hatten präoperative Thrombozytenwerte von unter $20000 \cdot 10^9/l$, elf Personen hatten eine moderate Thrombozytopenie, zwei lediglich einen milden Plättchenmangel. Sieben Patienten hatten vor Entfernung der Milz schwere Blutungen erlitten, davon fünf mit schwerer Thrombozytopenie. Zwei der sieben Patienten waren im Rahmen eines akuten Blutungsereignisses splenektomiert worden. Postoperative Thrombozytenwerte lagen von 16 der 40 (40.0%) Patienten vor: alle diese Patienten profitierten von der Milzexstirpation durch einen Anstieg der Thrombozyten. Dennoch kam es bei zwei Patienten 1.0 bzw. 5.7 Jahre nach Milzentfernung zu Blutungen, ersterer erlitt in den 4.6 Jahren zwischen Operation und Tod drei weitere intrakranielle Hämorrhagien bei permanent niedrigen Thrombozytenzahlen. In Abbildung 30 werden Blutungsereignisse zwischen Patienten ohne Splenektomie und Patienten nach Operation miteinander verglichen; es zeigte sich eine Risikoreduktion um 50%, jedoch kein signifikanter Unterschied bezüglich der kumulativen Inzidenz für Blutungsereignisse zwischen den beiden Vergleichsgruppen ($p=0.29$).

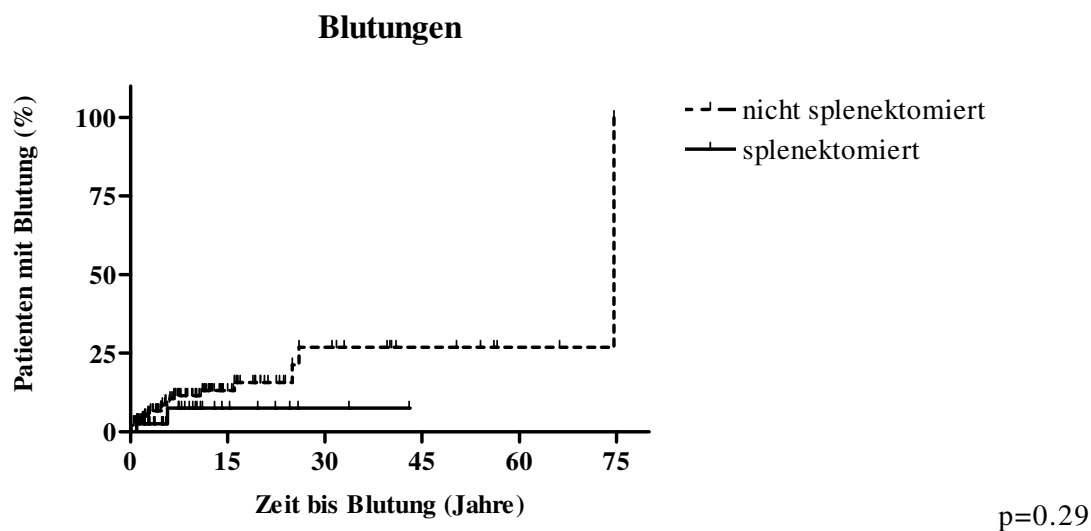


Abbildung 30: Vergleich der kumulativen Inzidenz von Blutungen zwischen Nicht- Splenektomierten und Patienten nach Splenektomie

Insgesamt waren bei acht Splenektomierten schwere Infektionen zu verzeichnen (siehe Tabelle 13), im Median 2.9 Jahre nach dem Eingriff (0.0-53.0 Jahre). Drei Ereignisse traten ohne antibiotische Prophylaxe auf. Auch mit Infektionsprophylaxe traten in fünf Fällen Infektionen auf.

Infektion (Lokalisation)	Zeit bis Infektion (Jahre)	AB-Prophylaxe
Pneumokokken-Sepsis, Pneumonie, Orchitis	0.0-6.3	ja
Salmonellose	0.8	ja
Pneumonie	3.7	ja
Pneumokokken-Meningitis	4.6	ja
Meningitis mit Pneumokokken-Sepsis	28.8	ja
Meningitis mit Pneumonie	0.8	nein
Streptokokken-Sepsis	2.0	nein
Bakterielle Meningitis	53.0	nein

Tabelle 13: Schwere Infektionen nach Splenektomie

Das Blockdiagramm in Abbildung 31 zeigt schwarz markiert den Anteil an Patienten mit schweren Infektionen nach Milzextirpation, abhängig von der Durchführung einer antibiotischen Prophylaxe ($p=0.35$).

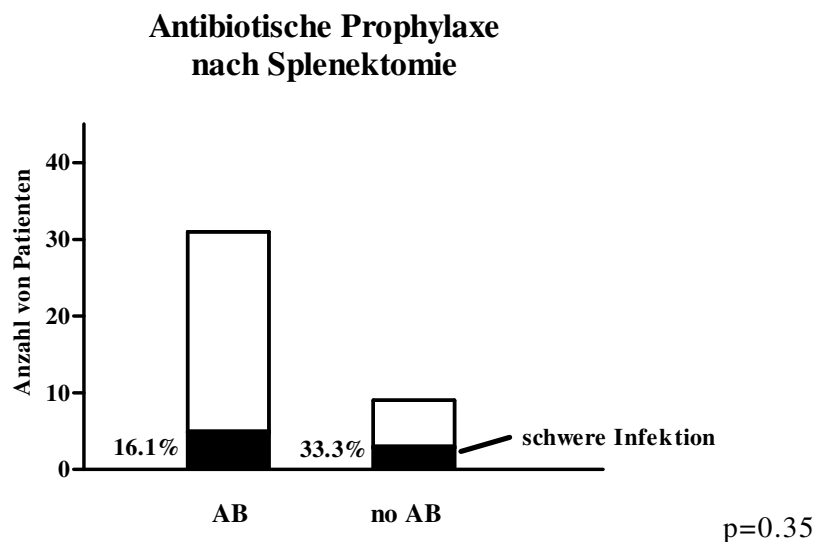


Abbildung 31: Schwere oder tödliche Infektionen nach Splenektomie, abhängig von der Durchführung antibiotischer Prophylaxe

Während nach Splenektomie acht von 40 Personen eine Infektionskomplikation entwickelten, waren es in der Gruppe ohne Milzentfernung nur sechs von 145 Personen; dies bedeutete einen signifikanten Unterschied mit nachteiligem Outcome nach Milzentfernung (siehe Abbildung 32, $p=0.0001$).

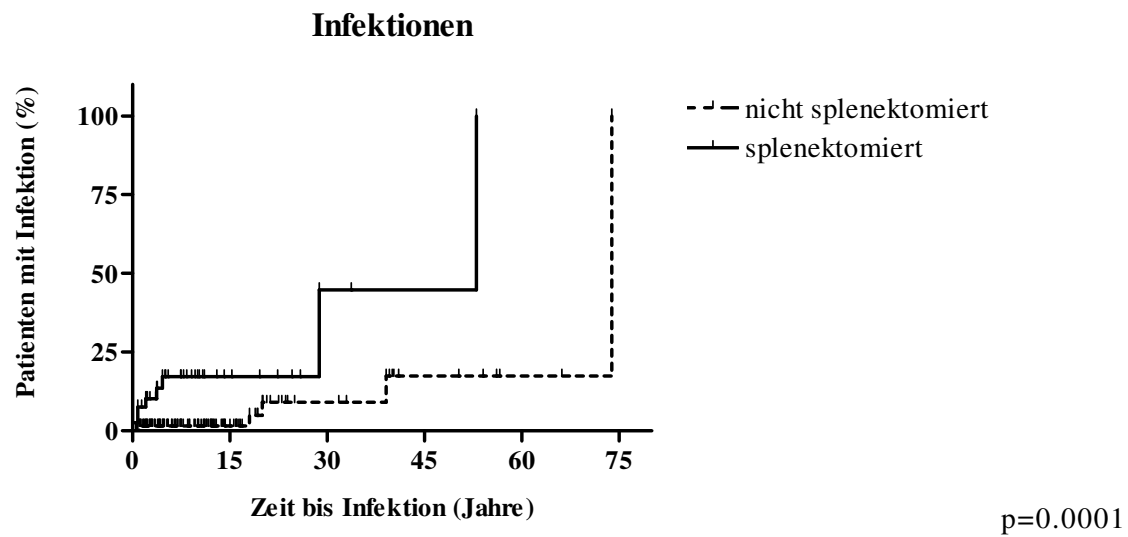


Abbildung 32: Vergleich der kumulativen Inzidenz von Infektionen zwischen Nicht- Splenektomierten und Patienten nach Splenektomie

4 Diskussion

4.1 Allgemeines Studiendesign

Bei diesem retrospektiven Studiendesign war es unabdingbar, klare Ein- und Ausschlusskriterien zu definieren, um dem Einschluss klassischer WAS-Patienten vorzubeugen. Wir wählten deshalb Einschlusskriterien, die am besten den individuellen Schweregrad der Erkrankung bei Vorstellung in einer auf Immundefekte spezialisierten Klinik widerspiegelten. Zusätzlich zu der Einschätzung des jeweils erfahrenen behandelnden Arztes als XLT bezogen wir das bewährte Bewertungssystem für XLT/WAS hinzu, was das Zuordnen von Patienten entsprechend ihrem Schweregrad objektiviert [19, 70]. Allerdings berücksichtigt dieses System nicht die Blutungstendenz, was einen Schwachpunkt darstellt, da somit nicht alle relevanten Aspekte dieser Erkrankung einbezogen werden. Man muss auch beachten, dass ein XLT- oder WAS-Patient zu jedem beliebigen Zeitpunkt einen Score von 5 durch Autoimmunität oder Tumorerkrankung erlangen kann. Zudem können sich auch klassische WAS-Patienten während der ersten Lebensjahre mit einem milden Phänotyp präsentieren [33]. Um den Einschluss klassischer WAS-Patienten mit einem geringen, in diesem Alter noch unzuverlässigen Score im Kindesalter zu vermeiden, wurde deshalb für Kinder unter zwei Jahren zusätzlich eine Mutation, die typischerweise mit einem milden klinischen Phänotyp einhergeht, gefordert.

Diese retrospektive klinische Multicenter-Studie an 185 Patienten ermöglicht den ersten und bisher einzigen Überblick über den natürlichen Verlauf der seltenen Erkrankung XLT und prüft für das WAS verwendete Prognoseparameter und Therapieoptionen auf ihren Nutzen bei diesem milden Phänotyp. Ein möglicher Nachteil dieser Studie ist ihr retrospektives Querschnitts-Design. Einige Ereignisse liegen inzwischen mehr als 30 Jahre zurück. Damals unterschied sich die medizinische Versorgung von heute, sodass man aufgrund des enormen Fortschritts in Diagnostik und Therapie keinen direkten Vergleich zwischen den damals und heute aufgetretenen Zwischenfällen ziehen kann. Man könnte auch bemängeln, dass dieser Studie sehr milde, nicht- oder falsch diagnostizierte Fälle entgehen. Dies ist sogar wahrscheinlich, da sich Patienten mit sehr mild verlaufender Form mit größter Wahrscheinlichkeit nicht in einem für Immundefekte spezialisierten Zentrum vorstellen, um sich einer gezielten Diagnostik zu unterziehen. Der letzte Follow-Up liegt zudem bei einigen Patienten schon mehrere Jahre zurück, sodass möglicherweise in der Zwischenzeit Ereignisse oder Todesfälle stattgefunden haben könnten, die der Analyse entgehen. Selbst bei ausgezeichneter Dokumentation und aktuellem Follow-Up ist es möglich, dass nicht alle stattgehabten Ereignisse oder Therapieversuche im Fragebogen dokumentiert wurden. Auch kann bei einer verordneten Therapie wie antibiotischer Prophylaxe möglicherweise eine

Non-Compliance bei einzelnen Patienten vorliegen, was die Interpretation und Bewertung von Therapieoptionen schwierig gestaltet.

4.2 Überlebens- und Ereigniszeitanalyse

In dieser Kohorte mit ausschließlich XLT-Patienten zeigte sich ein sehr gutes Langzeitüberleben. Durch das Anschreiben vorwiegend pädiatrischer immunologischer Zentren wurden allerdings sehr viel mehr Kinder und Jugendliche als Erwachsene rekrutiert. Diese schiefe Verteilung der Patientenzahlen in verschiedenen Altersgruppen ergab deshalb nur eine eingeschränkte Aussagekraft in den höheren Altersabschnitten. Trotz der guten Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit waren in der Kohorte zehn Personen (5.4%) im Median mit 15.3 Jahren (Durchschnitt 24.4 Jahre) verstorben, verglichen mit dem durchschnittlichen Sterbealter von acht Jahren in einer großen klinischen Studie an 154 WAS-Patienten verdeutlicht dies die höhere Lebenserwartung von XLT-Patienten [42].

Die Analyse des ereignisfreien Überlebens macht jedoch deutlich, dass die Wahrscheinlichkeit für Komplikationen mit zunehmendem Alter ansteigt.

Bei der Untersuchung der Zwischenfälle wurde immer nur das erste Ereignis eines Patienten gewertet, bei mehreren Ereignissen im Beobachtungszeitraum ging nur das erste in die Analyse ein.

Die gute Rate des Gesamtüberlebens unterstützt die in Publikationen veröffentlichte These, dass XLT eine eher milde und chronisch verlaufende Erkrankung ist, die bei der Mehrheit der Betroffenen keinen Einsatz prophylaktischer und/oder therapeutischer Interventionen erfordert [27, 70]. Jedoch zeigt der mit zunehmendem Alter sinkende Anteil ereignisfreier Patienten, dass die milde Form des WAS ein unerwartet hohes Risiko für die Entwicklung schwerer Komplikationen birgt, welche die Lebensqualität stark beeinträchtigen können.

4.3 XLT-assoziierte Komplikationen

Mehr als 80% der Studienteilnehmer hatten keine erhöhte Infektanfälligkeit oder allenfalls milde, nicht chronifizierende Infektionen. Dies könnte durch eine gute immunologische Funktion bei einem Großteil der XLT-Patienten und die Fortschritte in der anti-infektiven Therapie mit guter Verfügbarkeit breit-wirksamer Antibiotika bedingt sein [27]. Dennoch erlitten 7.6% der Patienten schwere Infektionen, drei verstarben daran. Das mediane Alter bei Diagnosestellung lag bei 19.0 Jahren (1.0-73.9 Jahre), eine Häufung in einem bestimmten Lebensalter konnte nicht beobachtet werden. Die Infektionen waren, wie in anderen Studien, größtenteils bakteriell bedingt [34, 42]. Mehr als ein Drittel aller schweren Infektionen trat bei splenektomierten Patienten auf, ein Viertel der Infektionen nach Splenektomie verlief tödlich. Durch Entfernung dieses immunologisch wichtigen Organs wird ver-

sucht, die Blutungsgefahr durch Anhebung der Thrombozytenzahl zu vermindern [78, 80, 82]. Allerdings erhöht dieser Eingriff auch bei Immunkompetenten das Risiko für infektiöse Komplikationen überproportional, so dass im Falle einer unumgänglichen Splenektomie in jedem Fall postoperativ eine dauerhafte antibiotische Prophylaxe dringend zu empfehlen ist [27]. Dies gilt insbesondere auch für XLT-Patienten, die wahrscheinlich eine geringgradige Immundefizienz haben, die erst nach Splenektomie zum Tragen kommt.

Entsprechend der Definition von Blutung als schweres Ereignis waren mehr als 50% der dokumentierten Blutungen intrakraniell lokalisiert, ein eklatanter Unterschied zu einer Studie an 154 WAS-Patienten, wo lediglich 3% der Blutungen intrakraniell lokalisiert waren [42]. Einen statistischen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Thrombozytopenie und der Blutungsneigung konnten wir nicht feststellen, was darauf hindeutet, dass eventuell andere, bisher noch nicht identifizierte Parameter die individuelle Blutungsneigung mit beeinflussen können. Außerdem muss man berücksichtigen, dass die Thrombozyten bei WAS/XLT auch einen funktionellen, nicht nur einen quantitativen Defekt haben [97]. Da man von der Thrombozytenzahl nur schlecht auf die Blutungsgefährdung schließen kann, gestaltet sich die Risikoabschätzung für die Einleitung präventiver Maßnahmen (Kopfschutz beim Spielen etc.) schwierig. Blutungsereignisse waren fast ausschließlich auf die ersten 30 Lebensjahre beschränkt. Dies könnte auf eine höhere Gefährdung während des Kindes- und Jugendalters bei vermehrter körperlicher Aktivität hindeuten. Jedoch ereigneten sich die meisten Blutungen spontan, lediglich bei vier Blutungsereignissen ist ein vorhergehendes (Bagatell-)Trauma dokumentiert.

Die Prävalenz maligner Tumore betrug in unserer Kohorte 4.9%. Verglichen mit 13% in einer Studie an klassischen WAS-Patienten scheint XLT damit ein deutlich geringeres Malignomrisiko zu beinhalten [42]. Zieht man das höhere Durchschnittsalter der XLT-Patienten gegenüber dem Alter untransplantierte WAS-Patienten in Betracht, wird dieser Unterschied in der Prävalenz noch prominenter. Anders als beim Vollbild WAS mit fast ausschließlich lymphatischen Malignomen war in dieser Kohorte nur die Hälfte der Neoplasien lymphatischen Ursprungs [42, 45]. Dies lässt sich mit der längeren Überlebenszeit von Patienten mit XLT gegenüber klassischem WAS erklären: Mit zunehmendem Alter steigt nicht nur das XLT-assoziierte Malignomrisiko, auch das Risiko für typische Neoplasien des höheren Lebensalters (Spinaliome, Karzinome) nimmt -möglicherweise unabhängig von der Grunderkrankung- deutlich zu. Verdeutlicht wird dies in unserer Studie am höheren Durchschnittsalter bei Diagnosestellung (32.6 Jahre) gegenüber 9.5 Jahren beim klassischen WAS [42]. Das Risiko für die Entwicklung eines Malignoms war in unserer Studie somit relativ konstant in allen Altersgruppen.

Autoimmunerkrankungen waren in unserer Kohorte bei 11.9% der Patienten in allen Lebensabschnitten aufgetreten, was darauf hinweist, dass diese Komplikation bei XLT-Patienten weniger verbreitet ist als bei klassischen WAS-Patienten, wo in zwei unab-

hängigen Studien Zahlen von 40-72% beobachtet worden waren [42, 43]. Ähnlich wie in anderen Studien berichtet, zeigte sich in unserer Kohorte eine Häufung von Autoimmun-Nephropathien und AIHA, die insgesamt mehr als 50% aller Autoimmunphänomene ausmachten [34, 42]. Eine Erklärung für das im Vergleich zum klassischen WAS sehr viel häufigere Auftreten von Autoimmun-Nephropathien bei XLT-Patienten könnte in deren Fähigkeit zur spezifischen IgA-Antikörperbildung liegen, welche aufgrund eines defekten Isotypen-Switch beim WAS beeinträchtigt ist [40, 43]. Eine Häufung dieser Komplikation unter den japanischen XLT-Patienten wurde berichtet [34]. Auch in unserer Studie gab es eine signifikante Häufung von Autoimmun-Nephropathien bei japanischen Patienten (5/29 Japaner gegenüber 4/156 anderen). Trotzdem lassen diese geringen Absolutwerte keine klare Schlussfolgerung zu.

In einer großen WAS-Studie wurde ein deutlich erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Neoplasie bei vorbestehender Autoimmunerkrankung beobachtet [42]. Dies konnte für unsere Patientengruppe nicht bestätigt werden. Nur zwei der 22 Patienten (9.1%) mit Autoimmunerkrankungen entwickelten im weiteren Verlauf eine Tumorerkrankung. Auffällig war jedoch, dass diese beiden an einer AIHA litten, was in einer anderen klinischen Studie an WAS-Patienten als Prognoseparameter für einen schwereren Verlauf der Erkrankung identifiziert worden war [43]. Allerdings sind die Absolutzahlen zu gering, um eine validierte Schlussfolgerung daraus zu ziehen.

4.4 Einfluss von Score, Mutationen und WASP auf den klinischen Verlauf

Von großer Bedeutung war die Untersuchung von Prognoseparametern auf ihre Zuverlässigkeit. Besonderes Augenmerk lag auf den bisher schon bei WAS-Patienten angewandten Einflussgrößen klinischer Score, WASP-Mutation und WASP-Expression für die Vorhersagekraft des Krankheitsverlaufs bei XLT.

Bei Gruppenbildung von Patienten mit Score von 1 (n=64) gegenüber Score 2 (n=93) diente im Wesentlichen das Vorhandensein eines Hautekzems zur Differenzierung. Es zeigte sich kein Unterschied in der Wahrscheinlichkeit des Gesamt- oder ereignisfreien Überlebens, was darauf hindeutet, dass der Hautbefund innerhalb von XLT keinen Parameter für die Prognose des Verlaufs darstellt. Für die Unterscheidung zwischen WAS- und XLT-Patienten ist der Hautstatus allerdings von großer Bedeutung, der auch im WAS-Score-System Berücksichtigung findet [19, 70]. Da Patienten mit schwerem Ekzem (entsprechend einem Score von ≥ 3 und damit dem WAS-Phänotyp) nicht in unsere Studie eingeschlossen wurden, konnte dieser Zusammenhang hier jedoch nicht demonstriert werden.

Bisher sind ungefähr 330 verschiedene Mutationen im *WASP*-Gen veröffentlicht worden, verteilt über alle 12 Exons und Introns [29]. Eine Häufung mit Dominanz von Missense-Mutationen findet sich in den ersten vier Exons des Gens [30]. Im Allgemeinen sind Missense-Mutationen in den ersten drei Exons mit *WASP*-Restaktivität und somit einer milden Form assoziiert, während Missense-Mutationen an anderen Stellen oder andere Arten von Mutationen, wie sie vor allem in den Exons 6-11 vorkommen, eher mit *WASP*-Defizienz und ausgeprägten Phänotypen vergesellschaftet sind [31, 33]. In dieser XLT-Studie trugen 63% der Patienten Missense-Mutationen in den ersten vier Exons des *WASP*-Gens. Die restlichen 37% waren über das gesamte Gen verteilt, einschließlich 18.9% in den nicht-kodierenden Abschnitten. Diese Beobachtung deckt sich mit dem, was zuvor für XLT-Patienten beschrieben worden war [30, 31, 33]. Zwei schon in mehreren Studien für XLT beschriebene Hotspots konnten an der Aminosäure-Positionen 86 und im Intron 6 bestätigt werden [33]. Der dritte nun identifizierte Hotspot betrifft Mutationen, die einen Aminosäure-Austausch an der Position 75 bewirken. Diese Punktmutationen wurden bereits mehrfach beschrieben, jedoch bisher nicht als Hotspot in der Literatur publiziert [98-100]. In unserer Kohorte wiesen 14 unserer Patienten Punktmutationen auf, die die Aminosäure 45 betreffen. Dieser bekannte Hotspot konnte hier jedoch nicht als solcher gewertet werden, weil unsere dafür geltenden Kriterien nicht erfüllt waren [27, 33]. Eine Erklärung für die Häufung dieser bestimmten Mutationen in so vielen nicht verwandten Familien wurde bisher noch nicht gefunden. Eine mögliche Erklärung ist, dass diese Abschnitte besonders gefährdete Stellen für Fehler während der DNA-Replikation darstellen könnten [33].

Die Genotyp-Phänotyp-Korrelation bei XLT ist jedoch nicht immer eindeutig, so dass auch Patienten mit nur leichter Funktionseinschränkung des *WASP* trotzdem einen schweren klinischen Verlauf und umgekehrt zeigen können [30, 34]. Auch zeigt sich eine große interindividuelle Variabilität im Protein-Expressionsmuster bei gleicher Mutation, die bei verschiedenen Patienten mit identischer Mutation zu unterschiedlich stark ausgeprägten Phänotypen führen können [30, 42].

Bei Vergleich von Exon- und Intron-Mutationen, Hotspots und Mutationen in den ersten beiden Exons gegenüber den jeweils restlichen Mutationen zeigte sich kein identifizierbarer Einfluss auf das Überleben oder die Inzidenz spezifischer Krankheits-assoziiierter Ereignisse. Ein Grund dafür könnte die meist ungleiche Verteilung der Patientenzahlen in den gebildeten Vergleichsgruppen sein, die die Detektion eines statistisch signifikanten Unterschiedes erschwert. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass von der Art der Mutation nicht auf den klinischen Verlauf innerhalb des XLT-Phänotyps geschlossen werden kann, und somit die Mutation keinen geeigneten Prognoseparameter darstellt.

Bei XLT-Patienten mit in *WASP*-Defizienz resultierender Mutation könnte der milde Phänotyp auch durch andere die Krankheit beeinflussende Gene, wie sie schon für chronische Granulomatose entdeckt wurden [101], Umweltfaktoren oder Exposition gegenüber Patho-

genen bedingt sein [27, 33]. Alternativ kann es bei Spleiß-Mutationen (wie dem bekannten Hotspot c.559G>A) auch zur Expression verschiedener Spleißprodukte kommen [31]. Auch das Entstehen somatischer Mosaik durch in vivo-Reversion ist ein bei WAS relativ häufig beschriebenes Phänomen [102, 103]. Die beiden letztgenannten Phänomene können zu einer geringen WASP-Expression und somit einem milderem Phänotyp als erwartet führen [33, 103].

In dieser Kohorte waren 17.2% der für diese Analyse auswertbaren Patienten (n=128) WASP-negativ, das heißt, Protein konnte weder im Western Blot noch per FACS nachgewiesen werden oder es gelang lediglich der Nachweis eines instabilen und/oder trunkierten Proteins. 82.8% der Patienten exprimierten WASP. Dies deckt sich mit den von Imai et al für XLT publizierten Prozentzahlen [46]. In einigen Publikationen wird postuliert, dass anhand der Proteinexpression zwischen WAS-Patienten, die in aller Regel kein oder trunkiertes Protein exprimieren und XLT-Patienten, die eine normale oder geringe Menge intakten Proteins bilden, unterschieden werden kann [33, 34]. Man könnte also argumentieren, dass einige der Studienteilnehmer, bei denen kein Proteinnachweis gelang, fälschlicherweise der WASP-negativen Gruppe zugeordnet worden sind, da sie kleinste Mengen an Protein bilden, die lediglich mit den gängigen Nachweis-Methoden, allen voran Western Blot, nicht zu detektieren sind. Unterstützt wird die Hypothese durch die Tatsache, dass elf der 22 WASP-negativen Patienten Mutationen tragen, die im Allgemeinen eine gewisse Protein-Expression gestatten (Missense- und invariante Spleiß-Mutationen).

Diese Regel zur Differenzierung zwischen den beiden Phänotypen kann dennoch nur orientierend angewandt werden; zahlreiche bisher veröffentlichte Ausnahmen erlauben keine strenge Klassifizierung des klinischen Phänotyps ausschließlich nach dem WASP-Expressionsmuster [30, 32]. In dieser Kohorte gab es keinen Unterschied zwischen dem klinischen Verlauf von Patienten mit oder ohne Proteinnachweis. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass innerhalb des milden Phänotyps nicht anhand des WASP-Status vorhergesagt werden kann, ob ein WASP-defizienter XLT-Patient tendenziell einen eher schwereren Krankheitsverlauf nehmen wird als ein anderer, Protein exprimierender.

Keiner der oben genannten Faktoren kann in dieser ausschließlich aus XLT-Patienten zusammengesetzten Kohorte als zuverlässiger Prognoseparameter verwendet werden. Dies zeigt, dass innerhalb des milden Phänotyps der Langzeitverlauf nicht vorhergesagt werden kann.

Dennoch erfüllen diese Prognoseparameter eine wichtige Funktion, da sie in Zusammenarbeit mit der Klinik eine erste Hilfestellung bei der Klassifizierung zwischen XLT- und WAS-Patienten bieten können.

4.5 Einfluss gängiger Therapieoptionen auf den klinischen Verlauf

Während die meisten WAS-Patienten zumindest zeitweise zur Stabilisierung ihrer Immunfunktion intravenös mit Immunglobulinen substituiert werden, erhielt nur etwa ein Fünftel unserer Studienpatienten im Beobachtungszeitraum prophylaktisch Immunglobuline [78]. Dies spricht dafür, dass XLT-Patienten in den meisten Fällen über eine relativ gute Immunfunktion verfügen und deshalb keine prophylaktischen Interventionen benötigen [34, 40, 42]. Dass die prophylaktische Gabe von Immunglobulinen keinen positiven Effekt auf ereignisfreies oder Gesamtüberleben oder die Inzidenz schwerer Infektionen hatte, könnte für die Ineffektivität dieser teuren Therapieform bei XLT-Patienten mit lediglich diskretem Immundefekt sprechen. Da uns jedoch für unsere Patienten keine Daten zur Immunfunktion (Ergebnisse von Stimulationstests, Immunglobulinspiegel, Antikörper-Titer, Impfantworten etc.) vorliegen, kann anhand dieser Daten keine fundierte Aussage über den Nutzen dieser Therapieform getroffen werden, zumal die Zuordnung zur Gruppe mit IVIG-Therapie schon dann erfolgte, wenn ein Patient im Beobachtungszeitraum mindestens einmalig eine Immunglobulin-Substitution erhalten hatte.

Für den Vergleich zwischen Patienten mit und ohne antibiotische Prophylaxe musste der Datensatz für Splenektomie zensiert werden, da die Entfernung dieses Immunorgans das Risiko für Infektions-Komplikationen stark erhöht [27]. Somit standen für diese Auswertung insgesamt 145 Patienten zur Verfügung, darunter 22 mit antibiotischer Prophylaxe, die (soweit Daten darüber vorlagen) im Median über sechs Jahre durchgeführt worden war.

Überraschenderweise gab es in der Gruppe ohne antibiotische Prophylaxe einen signifikanten Überlebensvorteil gegenüber Patienten mit Antibiotika. Dies deutet an, dass Patienten mit etwas schlechterem klinischem Verlauf von den behandelnden Ärzten großzügiger supportiv und/oder vorbeugend behandelt werden als Patienten mit milderem Phänotyp, bei denen dies nicht notwendig erscheint. Dass bei über 50% dieser Behandlungsgruppe (12/22) auch Immunglobuline verabreicht worden waren, erhärtet den Verdacht, dass hier eine Selektion besonders infektionsgefährdeter XLT-Patienten vorliegt, die ein intensiveres Behandlungsregime erfordern als andere, weniger betroffene Patienten. Der auf den ersten Blick überraschende Unterschied im Gesamtüberleben lässt sich somit durch eine verzerrte Gruppenbildung erklären und nicht durch einen therapiebedingten Überlebensnachteil. In der Analyse des ereignisfreien Überlebens zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen. Auch die Analyse der kumulativen Inzidenzrate für schwere Infektionsereignisse erbrachte keine Signifikanz, obwohl sich nur in der Gruppe ohne Prophylaxe schwere Infektionen ereignet hatten. Das statistisch nicht aussagekräftige Ergebnis könnte einerseits zeigen, dass die Infektionen zufällig verteilt waren und es keinen Zusammenhang zwischen antibiotischer Prophylaxe und der Häufigkeit von Infektionen gibt. Es könnte jedoch auch ein Zusammenhang zugunsten antibiotischer Prophylaxe

bestehen, der lediglich durch ungleich große Gruppenbildung (22 versus 123 Patienten) nicht statistisch bewiesen werden kann.

Insgesamt wurde etwa ein Fünftel der Patienten splenektomiert, was die Tatsache widerspiegelt, dass die Entfernung der Milz als eine Methode zur Behandlung der Thrombozytopenie, zur Reduktion des Blutungsrisikos und somit zur Verbesserung der Lebensqualität bei XLT und WAS im Allgemeinen akzeptiert ist [78, 104]. In dieser Studiengruppe konnte keine statistisch signifikante Reduktion in der kumulativen Inzidenzrate schwerer Blutungsereignisse nach dem Eingriff festgestellt werden, wenngleich es zu einer Reduktion des Blutungsrisikos um 50% kam. In dieser (wie in allen anderen Analysen) wurde nur das jeweils erste Blutungsereignis gewertet. Die Tatsache, dass es nach Splenektomie zu fünf Blutungen bei zwei Patienten kam, lässt die Splenektomie als effektives und sicheres Mittel zur Reduktion des Blutungsrisikos in Frage stellen. Das statistisch nicht aussagekräftige Ergebnis lässt sich durch sehr unterschiedliche Gruppengrößen erklären, zudem sind die Absolutzahlen der Patienten mit Blutungsereignis ($n=24/145$ ohne/vor Splenektomie, $n=2/40$ nach Splenektomie) zu gering, um einen Zusammenhang sicher zu entdecken.

Die kumulative Inzidenzrate schwerer Infektionen war nach Milzentfernung signifikant höher als bei Patienten ohne Splenektomie, insbesondere wenn postoperativ keine dauerhafte antibiotische Prophylaxe durchgeführt worden war. Insgesamt kam es bei drei von neun Patienten ohne Prophylaxe nach Splenektomie zu schweren Infektionen, wohingegen fünf von 31 Patienten mit antibiotischer Prophylaxe betroffen waren. Jedoch muss man berücksichtigen, dass unter Umständen eine Non-Compliance bezüglich der zuverlässigen regelmäßigen Einnahme der verschriebenen Antibiotika hierfür ursächlich gewesen sein könnte, die dieses Ergebnis erheblich verzerren könnte.

Diese Daten legen nahe, dass Splenektomie für XLT-Patienten nicht generell zu empfehlen ist, auch wenn sie in ausgewählten Fällen bei einer positiven Anamnese für schwere oder rezidivierende Hämorrhagien indiziert sein kann [47]. Die Entscheidung für oder gegen eine Splenektomie kann somit nur individuell getroffen werden, sollte jedoch nicht als rein präventive Maßnahme zur Reduktion des Blutungsrisikos eingesetzt werden [47]. Angesichts der Tatsache, dass ein Teil der XLT-Patienten erfolgreich Antikörper-Titer nach Vakzinierung bilden kann [40], sollte vor Milzentfernung in jedem Fall eine Impfung gegen kapselbildende Bakterien und post-operativ lebenslang eine antibiotische Prophylaxe durchgeführt werden, um das Risiko für lebensbedrohliche Infektionen so gut wie möglich zu minimieren [27].

4.6 HSCT als therapeutische Option bei XLT?

Der chronische oft komplizierende Langzeitverlauf bei XLT könnte für eine HSCT als Behandlungsoption bei diesen Patienten sprechen. Nimmt man die ausgezeichneten Erfolgsraten der HSCT bei jungen Kindern mit klassischem WAS, so scheint dies eine durchführbare Option bei XLT zu sein, wenn ein HLA-identischer Spender zur Verfügung steht [90].

Dennoch müssen bei der Diskussion einer HSCT sorgfältig die möglichen Vorteile gegen die potentiellen Risiken und langfristigen Konsequenzen dieses Eingriffs (wie das Risiko für die Entstehung von Zweitmalignomen und Infertilität) abgewogen werden [87, 88]. Folglich kann die HSCT nicht allgemein empfohlen werden, sondern muss -bei Verfügbarkeit eines passenden Spenders- auf einer individuellen Basis zusammen mit den Patienten und deren Eltern entschieden werden [47]. In unserer Studiengruppe unterzogen sich 29/185 Patienten einer HSCT in einem medianen Alter von 6.0 Jahren. Die Transplantation wurde bei über der Hälfte der Patienten nach dem fünften Lebensjahr durchgeführt, was bei klassischem WAS als suboptimal erachtet wird [89]. Das Endergebnis nach HSCT war nicht Gegenstand dieser XLT-Studie, da es aber bisher keinerlei veröffentlichte Daten darüber gibt, wird eine Analyse des Langzeitergebnisses nach HSCT bei XLT-Patienten dringend benötigt.

5 Zusammenfassung

Das Wiskott-Aldrich Syndrom (WAS) ist eine X-chromosomal rezessiv vererbte Erkrankung mit einem sehr breiten Krankheitsspektrum, die interdisziplinäre Zusammenarbeit im Management betroffener Patienten erfordert. Ein großer Teil der Patienten mit Mutationen im Wiskott-Aldrich Syndrom-Protein (*WASP*)-Gen weist den milden Phänotyp der X-chromosomalen Thrombozytopenie (X-linked thrombocytopenia, XLT) auf. Intravenös verabreichte Immunglobuline und prophylaktische Antibiotika-Therapie zur Überbrückung der Zeit bis zur allogenen Stammzelltransplantation im frühen Kindesalter stellen für Patienten mit klassischem WAS das therapeutische Vorgehen der Wahl dar.

Im Gegensatz dazu stellen Patienten mit dem milden klinischen Phänotyp XLT eine enorme Herausforderung bei der Entscheidung über Art und Ausmaß des therapeutischen Vorgehens dar. Besonders schwierig ist das Abwägen von sehr eingreifenden Therapiemaßnahmen wie der hämatopoietischen Stammzelltransplantation für sehr junge XLT-Patienten, die sich initial oft lediglich mit selektiver Mikrothrombozytopenie präsentieren. Zu einem so frühen Zeitpunkt kann noch keine Prognose für den Langzeitverlauf der Erkrankung gestellt werden, jedoch wäre eine frühe Evidenz-basierte Entscheidung für oder gegen diese einzig kurative Therapie extrem wichtig.

Ähnlich schwierig gestaltet sich das therapeutische Management erwachsener XLT-Patienten, die fälschlicherweise als immun-thrombozytopenische Purpura klassifiziert wurden, aber möglicherweise schon XLT-assoziierte Komplikationen entwickelt haben.

Diese retrospektive Multicenter-Studie wurde initiiert, um den natürlichen Krankheitsverlauf bei XLT nachzuzeichnen, die Wirksamkeit gängiger für das WAS etablierte Therapie-regimes zu überprüfen und somit Evidenz für optimale Behandlungsoptionen zu schaffen.

Es wurde eine retrospektive Fragebogen-basierte Datenerhebung an pädiatrischen Zentren mit Spezialisierung für angeborene Immundefekte durchgeführt. Patienten mit einer dokumentierten Mutation im *WASP*-Gen und einem klinischen WAS-Score von 2 oder geringer wurden in die Studie aufgenommen. Daten von insgesamt 185 Patienten aus zwölf Ländern, 2864 Patientenjahre umfassend, wurden analysiert.

Um den natürlichen Krankheitsverlauf nachzuzeichnen, wurde der gesamte Datensatz für hämatopoietische Stammzelltransplantation zensiert. Das mediane Alter zum Zeitpunkt des letzten Follow-Up lag bei 11.2 Jahren. Die Gesamt-Überlebenswahrscheinlichkeit in dieser Kohorte war hervorragend. Dennoch beobachteten wir eine überraschend hohe Rate an schweren Krankheits-assoziierten Komplikationen wie potentiell lebensbedrohenden Infektionen (7.6%) oder Blutungsereignissen (14.1%), Autoimmunerkrankungen (11.9%) und malignen Tumoren (4.9%).

Die Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit sowie die Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens wurden nicht statistisch signifikant durch die Art der Mutation oder die Expression von WASP beeinflusst.

Patienten, die während der Beobachtungsperiode mit antibiotischer Prophylaxe oder intravenös verabreichten Immunglobulinen behandelt worden waren, zeigten keinen Überlebensvorteil gegenüber anderen. Eine Splenektomie, der sich 40 Patienten (21.6%) unterzogen hatten, stellte einen signifikanten Risikofaktor für die Entwicklung einer schwerwiegenden Infektion dar, bot jedoch keine statistisch signifikante Reduktion des Blutungsrisikos.

Da Patienten mit XLT bei Ärzten verschiedener Fachrichtungen vorstellig werden, ist es von vitaler Bedeutung, das Bewusstsein für diese Erkrankung, die oft nicht oder fehldiagnostiziert wird, zu schärfen. Diese Daten definieren die Basis für den natürlichen Verlauf bei der milden Form des WAS und werden dazu beitragen, die bestmöglichen Behandlungsoptionen für jeden individuellen XLT-Patient anzubieten.

6 Anhang

6.1 Literaturverzeichnis

1. Wiskott, A., Familiärer, angeborener Morbus Werlhofii ? Monatsschr. Kinderheilkd, 1937. 68: p. 212-216.
2. Aldrich, R.A., A.G. Steinberg, and D.C. Campbell, Pedigree demonstrating a sex-linked recessive condition characterized by draining ears, eczematoid dermatitis and bloody diarrhea. Pediatrics, 1954. 13(2): p. 133-9.
3. Schaar, F.E., Familial idiopathic thrombocytopenic purpura. J Pediatr, 1963. 62: p. 546-51.
4. Vestermark, B. and S. Vestermark, Familial Sex-Linked Thrombocytopenia. Acta Paediatr, 1964. 53: p. 365-70.
5. Canales, M.L. and A.M. Mauer, Sex-linked hereditary thrombocytopenia as a variant of Wiskott-Aldrich syndrome. N Engl J Med, 1967. 277(17): p. 899-901.
6. Moore, J.R., X-linked idiopathic thrombocytopenia. Clin Genet, 1974. 5(4): p. 344-50.
7. Derry, J.M., H.D. Ochs, and U. Francke, Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. Cell, 1994. 78(4): p. 635-44.
8. Villa, A., et al., X-linked thrombocytopenia and Wiskott-Aldrich syndrome are allelic diseases with mutations in the WASP gene. Nat Genet, 1995. 9(4): p. 414-7.
9. Derry, J.M., H.D. Ochs, and U. Francke, Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. Cell, 1994. 79(5): p. following 922.
10. Stewart, D.M., et al., Studies of the expression of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. J Clin Invest, 1996. 97(11): p. 2627-34.
11. Notarangelo, L.D., C.H. Miao, and H.D. Ochs, Wiskott-Aldrich syndrome. Curr Opin Hematol, 2008. 15(1): p. 30-6.
12. Miki, H., K. Miura, and T. Takenawa, N-WASP, a novel actin-depolymerizing protein, regulates the cortical cytoskeletal rearrangement in a PIP2-dependent manner downstream of tyrosine kinases. Embo J, 1996. 15(19): p. 5326-35.
13. Rameh, L.E., et al., A comparative analysis of the phosphoinositide binding specificity of pleckstrin homology domains. J Biol Chem, 1997. 272(35): p. 22059-66.
14. Symons, M., et al., Wiskott-Aldrich syndrome protein, a novel effector for the GTPase CDC42Hs, is implicated in actin polymerization. Cell, 1996. 84(5): p. 723-34.

15. Aspenstrom, P., U. Lindberg, and A. Hall, Two GTPases, Cdc42 and Rac, bind directly to a protein implicated in the immunodeficiency disorder Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Biol*, 1996. 6(1): p. 70-5.
16. Nobes, C.D. and A. Hall, Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*, 1995. 81(1): p. 53-62.
17. Kim, A.S., et al., Autoinhibition and activation mechanisms of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Nature*, 2000. 404(6774): p. 151-8.
18. Takenawa, T. and H. Miki, WASP and WAVE family proteins: key molecules for rapid rearrangement of cortical actin filaments and cell movement. *J Cell Sci*, 2001. 114(Pt 10): p. 1801-9.
19. Ochs, H.D., The Wiskott-Aldrich syndrome. *Isr Med Assoc J*, 2002. 4(5): p. 379-84.
20. Zigmond, S.H., How WASP regulates actin polymerization. *J Cell Biol*, 2000. 150(6): p. F117-20.
21. Cannon, J.L., et al., Wasp recruitment to the T cell:APC contact site occurs independently of Cdc42 activation. *Immunity*, 2001. 15(2): p. 249-59.
22. Dupre, L., et al., Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates lipid raft dynamics during immunological synapse formation. *Immunity*, 2002. 17(2): p. 157-66.
23. Linder, S., et al., Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates podosomes in primary human macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(17): p. 9648-53.
24. Jones, G.E., et al., Restoration of podosomes and chemotaxis in Wiskott-Aldrich syndrome macrophages following induced expression of WASp. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002. 34(7): p. 806-15.
25. Westerberg, L., et al., Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency leads to reduced B-cell adhesion, migration, and homing, and a delayed humoral immune response. *Blood*, 2005. 105(3): p. 1144-52.
26. Gismondi, A., et al., Impaired natural and CD16-mediated NK cell cytotoxicity in patients with WAS and XLT: ability of IL-2 to correct NK cell functional defect. *Blood*, 2004. 104(2): p. 436-43.
27. Ochs, H.D. and F.S. Rosen, Wiskott-Aldrich Syndrome, in *Primary immunodeficiency Diseases*, H.D. Ochs, C.I.E. Smith, and J.M. Puck, Editors. 2007, Oxford University Press: New York City. p. 454-69.

28. Burns, S., et al., Mechanisms of WASp-mediated hematologic and immunologic disease. *Blood*, 2004. 104(12): p. 3454-62.
29. Proust, A., et al., Detection of 28 novel mutations in the Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia based on multiplex PCR. *Blood Cells Mol Dis*, 2007. 39(1): p. 102-6.
30. Schindelhauer, D., et al., Wiskott-Aldrich syndrome: no strict genotype-phenotype correlations but clustering of missense mutations in the amino-terminal part of the WASP gene product. *Hum Genet*, 1996. 98(1): p. 68-76.
31. Zhu, Q., et al., Wiskott-Aldrich syndrome/X-linked thrombocytopenia: WASP gene mutations, protein expression, and phenotype. *Blood*, 1997. 90(7): p. 2680-9.
32. Ochs, H.D., Mutations of the Wiskott-Aldrich Syndrome Protein affect protein expression and dictate the clinical phenotypes. *Immunol Res*, 2008.
33. Jin, Y., et al., Mutations of the Wiskott-Aldrich Syndrome Protein (WASP): hot-spots, effect on transcription, and translation and phenotype/genotype correlation. *Blood*, 2004. 104(13): p. 4010-9.
34. Imai, K., et al., Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood*, 2004. 103(2): p. 456-64.
35. Thrasher, A.J. and C. Kinnon, The Wiskott-Aldrich syndrome. *Clin Exp Immunol*, 2000. 120(1): p. 2-9.
36. Ryser, O., A. Morell, and W.H. Hitzig, Primary immunodeficiencies in Switzerland: first report of the national registry in adults and children. *J Clin Immunol*, 1988. 8(6): p. 479-85.
37. Stray-Pedersen, A., T.G. Abrahamsen, and S.S. Froland, Primary immunodeficiency diseases in Norway. *J Clin Immunol*, 2000. 20(6): p. 477-85.
38. Ochs, H.D. and L.D. Notarangelo, Structure and function of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Curr Opin Hematol*, 2005. 12(4): p. 284-91.
39. Park, J.Y., et al., Phenotypic perturbation of B cells in the Wiskott-Aldrich syndrome. *Clin Exp Immunol*, 2005. 139(2): p. 297-305.
40. Ochs, H.D., et al., The Wiskott-Aldrich syndrome: studies of lymphocytes, granulocytes, and platelets. *Blood*, 1980. 55(2): p. 243-52.
41. Park, J.Y., et al., Early deficit of lymphocytes in Wiskott-Aldrich syndrome: possible role of WASP in human lymphocyte maturation. *Clin Exp Immunol*, 2004. 136(1): p. 104-10.

42. Sullivan, K.E., et al., A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Pediatr*, 1994. 125(6 Pt 1): p. 876-85.
43. Dupuis-Girod, S., et al., Autoimmunity in Wiskott-Aldrich syndrome: risk factors, clinical features, and outcome in a single-center cohort of 55 patients. *Pediatrics*, 2003. 111(5 Pt 1): p. e622-7.
44. Jacobson, D.L., et al., Epidemiology and estimated population burden of selected autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol*, 1997. 84(3): p. 223-43.
45. Perry, G.S., 3rd, et al., The Wiskott-Aldrich syndrome in the United States and Canada (1892-1979). *J Pediatr*, 1980. 97(1): p. 72-8.
46. Imai, K., S. Nonoyama, and H.D. Ochs, WASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) gene mutations and phenotype. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2003. 3(6): p. 427-36.
47. Ochs, H.D., et al., Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2008. 15(1 Suppl): p. 84-90.
48. Humblet-Baron, S., et al., Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for regulatory T cell homeostasis. *J Clin Invest*, 2007. 117(2): p. 407-18.
49. Sasahara, Y., et al., Mechanism of recruitment of WASP to the immunological synapse and of its activation following TCR ligation. *Mol Cell*, 2002. 10(6): p. 1269-81.
50. Sakaguchi, S. and N. Sakaguchi, Regulatory T cells in immunologic self-tolerance and autoimmune disease. *Int Rev Immunol*, 2005. 24(3-4): p. 211-26.
51. Adriani, M., et al., Impaired in vitro regulatory T cell function associated with Wiskott-Aldrich syndrome. *Clin Immunol*, 2007. 124(1): p. 41-8.
52. Schurman, S.H. and F. Candotti, Autoimmunity in Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Opin Rheumatol*, 2003. 15(4): p. 446-53.
53. Notarangelo, L.D., et al., Missense mutations of the WASP gene cause intermittent X-linked thrombocytopenia. *Blood*, 2002. 99(6): p. 2268-9.
54. Andreu, N., et al., Two novel mutations identified in the Wiskott-Aldrich syndrome protein gene cause Wiskott-Aldrich syndrome and thrombocytopenia. *Int J Mol Med*, 2007. 19(5): p. 777-82.
55. Devriendt, K., et al., Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet*, 2001. 27(3): p. 313-7.

56. Beel, K., et al., A large kindred with X-linked neutropenia with an I294T mutation of the Wiskott-Aldrich syndrome gene. *Br J Haematol*, 2009. 144(1): p. 120-6.
57. Notarangelo, L.D., et al., Analysis of X-chromosome inactivation and presumptive expression of the Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) gene in hematopoietic cell lineages of a thrombocytopenic carrier female of WAS. *Hum Genet*, 1991. 88(2): p. 237-41.
58. Inoue, H., et al., X-linked thrombocytopenia in a girl. *Br J Haematol*, 2002. 118(4): p. 1163-5.
59. Lutskiy, M.I., et al., Wiskott-Aldrich syndrome in a female. *Blood*, 2002. 100(8): p. 2763-8.
60. Andreu, N., et al., Wiskott-Aldrich syndrome in a female with skewed X-chromosome inactivation. *Blood Cells Mol Dis*, 2003. 31(3): p. 332-7.
61. Parolini, O., et al., X-linked Wiskott-Aldrich syndrome in a girl. *N Engl J Med*, 1998. 338(5): p. 291-5.
62. Conley, M.E., et al., Atypical Wiskott-Aldrich syndrome in a girl. *Blood*, 1992. 80(5): p. 1264-9.
63. Proust, A., et al., Recurrent V75M mutation within the Wiskott-Aldrich syndrome protein: description of a homozygous female patient. *Eur J Haematol*, 2005. 75(1): p. 54-9.
64. Conley, M.E., L.D. Notarangelo, and A. Etzioni, Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clin Immunol*, 1999. 93(3): p. 190-7.
65. Levin, A.S., et al., Wiskott-Aldrich syndrome, a genetically determined cellular immunologic deficiency: clinical and laboratory responses to therapy with transfer factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1970. 67(2): p. 821-8.
66. Molina, I.J., et al., T cells of patients with the Wiskott-Aldrich syndrome have a restricted defect in proliferative responses. *J Immunol*, 1993. 151(8): p. 4383-90.
67. Remold-O'Donnell, E., F.S. Rosen, and D.M. Kenney, Defects in Wiskott-Aldrich syndrome blood cells. *Blood*, 1996. 87(7): p. 2621-31.
68. Jones, L.N., et al., A novel protocol to identify mutations in patients with wiskott-Aldrich syndrome. *Blood Cells Mol Dis*, 2002. 28(3): p. 392-8.

69. Kawai, S., et al., Flow cytometric determination of intracytoplasmic Wiskott-Aldrich syndrome protein in peripheral blood lymphocyte subpopulations. *J Immunol Methods*, 2002. 260(1-2): p. 195-205.
70. Zhu, Q., et al., The Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked congenital thrombocytopenia are caused by mutations of the same gene. *Blood*, 1995. 86(10): p. 3797-804.
71. Ochs, H.D. and A.J. Thrasher, The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 2006. 117(4): p. 725-38; quiz 739.
72. Krivit, W. and R.A. Good, Aldrich's syndrome (thrombocytopenia, eczema, and infection infants); studies of the defense mechanisms. *AMA J Dis Child*, 1959. 97(2): p. 137-53.
73. Root, A.W. and C.E. Speicher, The triad of thrombocytopenia, eczema, and recurrent infections (Wiskott-Aldrich syndrome) associated with milk antibodies, giant-cell pneumonia, and cytomegalic inclusion disease. *Pediatrics*, 1963. 31: p. 444-54.
74. Mathew, P. and M.E. Conley, Effect of intravenous gammaglobulin (IVIG) on the platelet count in patients with Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr Allergy Immunol*, 1995. 6(2): p. 91-4.
75. Litzman, J., et al., Intravenous immunoglobulin, splenectomy, and antibiotic prophylaxis in Wiskott-Aldrich syndrome. *Arch Dis Child*, 1996. 75(5): p. 436-9.
76. Ferrara, M., et al., Prophylactic platelet transfusion in children with thrombocytopenic disorders: a retrospective review. *Hematology*, 2007. 12(4): p. 297-9.
77. Sandler, S.G., Alloimmune refractoriness to platelet transfusions. *Curr Opin Hematol*, 1997. 4(6): p. 470-3.
78. Conley, M.E., et al., An international study examining therapeutic options used in treatment of Wiskott-Aldrich syndrome. *Clin Immunol*, 2003. 109(3): p. 272-7.
79. Grenouillet-Delacrea, M. and M. Longy-Boursier, [Human immunoglobulins, adverse drug reaction, prevention]. *Rev Med Interne*, 2008. 29 Spec No 2: p. 24-8.
80. Lum, L.G., et al., Splenectomy in the management of the thrombocytopenia of the Wiskott-Aldrich syndrome. *N Engl J Med*, 1980. 302(16): p. 892-6.
81. Corash, L., B. Shafer, and R.M. Blaese, Platelet-associated immunoglobulin, platelet size, and the effect of splenectomy in the Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood*, 1985. 65(6): p. 1439-43.

82. Mullen, C.A., K.D. Anderson, and R.M. Blaese, Splenectomy and/or bone marrow transplantation in the management of the Wiskott-Aldrich syndrome: long-term follow-up of 62 cases. *Blood*, 1993. 82(10): p. 2961-6.
83. Weiden, P.L. and R.M. Blaese, Hereditary thrombocytopenia: relation to Wiskott-Aldrich syndrome with special reference to splenectomy. Report of a family and review of the literature. *J Pediatr*, 1972. 80(2): p. 226-34.
84. Kaplinsky, C. and Z. Spierer, Post-splenectomy antibiotic prophylaxis--unfinished story: to treat or not to treat? *Pediatr Blood Cancer*, 2006. 47(5 Suppl): p. 740-1.
85. Ozsahin, H., et al., Long-term outcome following hematopoietic stem-cell transplantation in Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the European Society for Immunodeficiencies and European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*, 2008. 111(1): p. 439-45.
86. Bach, F.H., et al., Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet*, 1968. 2(7583): p. 1364-6.
87. Leung, W., et al., A prospective cohort study of late sequelae of pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Medicine (Baltimore)*, 2007. 86(4): p. 215-24.
88. Lowe, T., S. Bhatia, and G. Somlo, Second malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007. 13(10): p. 1121-34.
89. Filipovich, A.H., et al., Impact of donor type on outcome of bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the National Marrow Donor Program. *Blood*, 2001. 97(6): p. 1598-603.
90. Pai, S.Y., et al., Stem cell transplantation for the Wiskott-Aldrich syndrome: a single-center experience confirms efficacy of matched unrelated donor transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2006. 38(10): p. 671-9.
91. Barker, J.N., et al., Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis. *Blood*, 2001. 97(10): p. 2957-61.
92. Kobayashi, R., et al., Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. *Br J Haematol*, 2006. 135(3): p. 362-6.

93. Charrier, S., et al., Lentiviral vectors targeting WASp expression to hematopoietic cells, efficiently transduce and correct cells from WAS patients. *Gene Ther*, 2007. 14(5): p. 415-28.
94. Dupre, L., et al., Efficacy of gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome using a WAS promoter/cDNA-containing lentiviral vector and nonlethal irradiation. *Hum Gene Ther*, 2006. 17(3): p. 303-13.
95. Biffi, A. and M. Cesani, Human hematopoietic stem cells in gene therapy: pre-clinical and clinical issues. *Curr Gene Ther*, 2008. 8(2): p. 135-46.
96. Dewey, R.A., et al., Retroviral WASP gene transfer into human hematopoietic stem cells reconstitutes the actin cytoskeleton in myeloid progeny cells differentiated in vitro. *Exp Hematol*, 2006. 34(9): p. 1161-9.
97. Shcherbina, A., F.S. Rosen, and E. Remold-O'Donnell, WASP levels in platelets and lymphocytes of wiskott-aldrich syndrome patients correlate with cell dysfunction. *J Immunol*, 1999. 163(11): p. 6314-20.
98. Derry, J.M., et al., WASP gene mutations in Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia. *Hum Mol Genet*, 1995. 4(7): p. 1127-35.
99. Lemahieu, V., J.M. Gastier, and U. Francke, Novel mutations in the Wiskott-Aldrich syndrome protein gene and their effects on transcriptional, translational, and clinical phenotypes. *Hum Mutat*, 1999. 14(1): p. 54-66.
100. Fillat, C., et al., Identification of WASP mutations in 14 Spanish families with Wiskott-Aldrich syndrome. *Am J Med Genet*, 2001. 100(2): p. 116-21.
101. Foster, C.B., et al., Host defense molecule polymorphisms influence the risk for immune-mediated complications in chronic granulomatous disease. *J Clin Invest*, 1998. 102(12): p. 2146-55.
102. Ariga, T., et al., Detection of lymphocytes and granulocytes expressing the mutant WASP message in carriers of Wiskott-Aldrich syndrome. *Br J Haematol*, 1999. 104(4): p. 893-900.
103. Davis, B.R. and F. Candotti, Revertant somatic mosaicism in the Wiskott-Aldrich syndrome. *Immunol Res*, 2009. Jan 7. [Epub ahead of print].
104. Ho, L.L., et al., Missense C168T in the Wiskott--Aldrich Syndrome protein gene is a common mutation in X-linked thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 2001. 112(1): p. 76-80.

6.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind. Folgende Personen unterstützten mich bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts: Priv.-Doz. Dr. med. M. Albert und Prof. Dr. med. B. H. Belohradsky; die Hilfe eines Promotionsberaters wurde nicht in Anspruch genommen. Ich versichere, die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht zu haben und die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht zu haben.

München, im Dezember 2009

6.3 Danksagung

Ganz herzlich danke ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. B. H. Belohradsky für die freundliche Überlassung des Themas, die Bereitstellung wichtiger und sehr interessanter Literatur, seinen unermüdlichen Einsatz beim Gewinnen ärztlicher Kollegen für dieses Projekt sowie seine stets motivierenden Worte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Oberarzt Priv.-Doz. Dr. med. M. Albert für die fantastische Betreuung meiner Dissertation während der letzten drei Jahre. Mit seinem fundierten Fachwissen und vielen hilfreichen Ideen stand er mir in allen Phasen der Arbeit stets zur Seite. Es gelang ihm, mich in unzähligen inspirierenden fachlichen Diskussionen immer wieder neu für diese seltene Erkrankung zu begeistern.

Des Weiteren möchte ich mich bei den betreuenden Kinderärzten und Ärzten der teilnehmenden Zentren für deren Unterstützung bedanken und insbesondere bei den Patienten, deren Eltern und Geschwistern, die dieses Projekt erst ermöglicht haben.

Außerdem bin ich meinen Eltern sehr dankbar, die mir dieses Studium ermöglichten und mich bedingungslos in all meinen Zukunftsplänen unterstützen.

6.4 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Tanja Bittner
Geburtsdatum	11.02.1984
Geburtsort	Ansbach
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig

SCHULISCHE AUSBILDUNG

Sept. 1990 - Juli 1994	Besuch der Grundschule Lichtenau
Sept. 1994 - Juni 2003	Besuch des Laurentius-Gymnasium Neuendettelsau
Mai 2003	Abitur

UNIVERSITÄRE AUSBILDUNG

Okt. 2003 - Nov. 2009	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Aug. 2005	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Okt. - Nov. 2009	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

FAMULATUREN

März 2006	Innere Medizin, Städtisches Klinikum Ansbach
Aug. 2006	Pädiatrie (Praxisfamulatur), München und Ansbach
März 2007	Innere Medizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Medizinische Klinik Innenstadt
März 2008	Gynäkologie und Geburtshilfe, Centre Hospitalier Universitaire Fort de France, Martinique

PRAKTISCHES JAHR

Aug. 2008 - Dez. 2008	Innere Medizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, Medizinische Klinik Innenstadt
Dez. 2008 - März 2009	Pädiatrie, Ludwig-Maximilians-Universität München, Dr. von Haunersches Kinderspital
März 2009 - Juli 2009	Chirurgie, Universität Lausanne, Hôpital Cantonal de Fribourg