

**Aus der Klinik und Poliklinik für Kinderheilkunde
der Universität Würzburg**

Direktor: Professor Dr. med. Christian P. Speer

Klinisches und diagnostisches Spektrum der pädiatrischen Hypophosphatasie

Eine retrospektive Auswertung der Daten von 50 Patienten

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Marius Lothar Vogt

aus Würzburg

Würzburg, Oktober 2019

Referentin: Priv.-Doz. Dr. Christine Hofmann

Korreferent: Prof. Dr. Franz Jakob

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

Der Promovend ist Arzt.

INHALTSVERZEICHNIS:

1. EINLEITUNG	1
2. EINFÜHRUNG	2
2.1 Allgemeines	2
2.2 Die Alkalische Phosphatase (AP)	2
2.2.1 Struktur der Alkalischen Phosphatase.....	3
2.2.2 Das ALPL-Gen.....	4
2.2.3 Funktion der AP	6
2.2.3.1 Spaltung von Anorganischem Pyrophosphat (PP _i).....	6
2.2.3.2 Spaltung von Pyridoxal-5'-phosphat (PLP).....	7
2.2.3.3 Phosphoethanolamin (PEA).....	8
2.2.3.4 Spaltung von Nukleotiden (dNTP)	8
2.3 Epidemiologie der HPP	9
2.4 Symptomatik der HPP	9
2.4.1 Perinatale Form der HPP	10
2.4.2 Infantile Form der HPP	10
2.4.3 Kindliche Form der HPP	11
2.4.4 Adulte Form der HPP	12
2.4.5 Odonto-HPP	12
2.5 Diagnostik der HPP	13
2.5.1 Laborchemische Diagnostik.....	13
2.5.2 Radiologische Diagnostik	14
2.5.3 Genetische Diagnostik.....	15
2.5.4 Pränataldiagnostik	16
2.5.5 Differentialdiagnosen	16
2.6 Therapie der HPP	17
2.6.1 Multimodale Betreuung.....	17
2.6.2 Enzymersatztherapie (ERT)	19
3. ZIELSETZUNG	20

4. METHODEN UND AUSWAHL DER PATIENTEN	21
4.1 Auswahl der Patienten	21
4.2 Erstellen einer Microsoft Access® - Datenbank	21
4.2.1 Erfassung der Patientendaten	22
4.2.2 Einteilung der klinischen Symptomatik	23
4.2.2.1 Systemische Manifestation	23
4.2.2.2 Knochenmanifestationen	24
4.2.2.3 Zahnmanifestationen.....	24
5. ERGEBNISSE	25
5.1 Das Patientenkollektiv	25
5.1.1 Geschlechter- und Altersverteilung.....	25
5.1.2 Einteilung in HPP-Subtypen	25
5.2 Diagnostik.....	27
5.2.1 Alter bei Symptombeginn und Alter bei Diagnosestellung	27
5.2.2 Diagnosestellung	28
5.2.3 Erste Symptome im Rahmen der HPP	29
5.2.4 Vorherige Verdachtsdiagnosen	30
5.3 Klinische Symptomatik der Patienten.....	32
5.4 Laborchemische Auffälligkeiten.....	34
5.5 Genetik.....	37
5.5.1 Genotyp der Patienten	37
5.5.2 Mutationen	37
5.5.2.1 Verteilung der Mutationen auf Exons/Introns	39
5.5.2.2 Einteilung der Mutationen nach ihrer Mutationsart.....	39
5.5.2.3 Bislang nicht veröffentlichte Mutationen	40
5.6 Therapie	42
5.6.1 Multimodale Betreuung.....	43
5.6.2 Enzymersatztherapie	43

6. DISKUSSION	44
6.1 Methodik und Patientenkollektiv	44
6.2 Diagnose der HPP	45
6.3 Klinische Symptomatik und Therapie	50
6.4 Genetik.....	51
7. ZUSAMMENFASSUNG	53
8. ANHANG.....	55
8.1 Literaturverzeichnis	55
8.2 Abbildungsverzeichnis.....	61
8.3 Tabellenverzeichnis	62
8.3 Abkürzungsverzeichnis.....	63

DANKSAGUNG

Teile dieser Arbeit wurden im Rahmen einer „Oral Communication“ auf dem International Congress of Children’s Bone Health (ICCBH) 2017 in Würzburg vorgestellt (ausgezeichnet mit dem „New Investigator Award“).

Vogt M, Girschick H, Holl-Wieden A, Seefried L, Jakob F, Hofmann C

Pediatric hypophosphatasia – a retrospective single-center chart review of 50 children

(Oral Communication)

1. Einleitung

Das Krankheitsbild der Hypophosphatasie (HPP) stellt in vielen Fachbereichen der Medizin eine sowohl diagnostische als auch therapeutische Herausforderung dar. Aufgrund der sehr variablen klinischen Präsentation ist es oftmals schwierig, die HPP als Ursache der gebotenen Symptomatik auszumachen. Die Erkrankung mit der Vielzahl ihrer Beschwerden und typischen Charakteristika zu kennen ist somit eine Grundvoraussetzung für die frühzeitige und korrekte Diagnosestellung. Dies ist auch deshalb wichtig, da Patienten so möglichst früh korrekt diagnostiziert und dementsprechend auch möglichst früh und nach aktuellem Fachkonsens betreut und therapiert werden können.

Bereits seit längerer Zeit ist sowohl die Universitätskinderklinik als auch die Orthopädische Klinik König-Ludwig-Haus in Würzburg Anlaufstelle für eine große Gruppe von HPP Patienten unterschiedlichster Ausprägung.

Im multidisziplinären Zentrum für HPP in Würzburg werden Patienten mit vergleichsweise milder Symptomatik ambulant bzw. tagesklinisch im Rahmen der osteologischen/rheumatologischen Sprechstunde betreut. Im Rahmen einer Phase-II-Studie zur Enzyersatztherapie (ERT) konnten schwer betroffene pädiatrische Patienten am Standort Würzburg bereits seit 2011 mit dem seit 2015 zugelassenen Wirkstoff Asfotase alfa behandelt werden. Dementsprechend erfolgten engmaschige und regelmäßige Follow-Up-Untersuchungen. Als eines der international größten klinischen Studienzentren war Würzburg maßgeblich an der Entwicklung und Zulassung dieser neuen Therapieoption beteiligt.

Unter der Federführung des Würzburger Ärzteteams wird zudem an einer neuen nationalen Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der HPP gearbeitet.

Auch der seit 2006 bestehende Patientenverband „Hypophosphatasie Deutschland e.V.“ wurde in Würzburg gegründet und von hier koordiniert.

In meiner Dissertation habe ich die demografischen und klinischen Daten der hier an der Universitätskinderklinik Würzburg in den letzten 25 Jahren vorstelligen HPP Patientinnen und Patienten retrospektiv aufgearbeitet und ausgewertet.

2. Einführung

2.1 Allgemeines

Die HPP [ORPHA: 436, ICD-10 E.83.38] ist eine seltene, erbliche Erkrankung des Knochen- und Mineralstoffwechsels, welche durch eine reduzierte Aktivität der gewebeunspezifischen Alkalischen Phosphatase (TNSAP) verursacht wird und erstmalig im Jahr 1948 von J.C. Rathbun (1915-1972) beschrieben wurde [1].

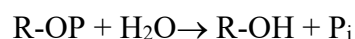
Ursächlich für die verminderte Enzymfunktion sind Mutationen im ALPL-Gen, welche sowohl autosomal-rezessiv als auch autosomal-dominant vererbt werden können.

In der klinischen Routine hat sich eine Einteilung der HPP in 5 Subtypen etabliert, die sich anhand ihrer klinischen Ausprägung und ihres Manifestationsalters unterscheiden. Hierzu zählen die perinatale Form, die infantile Form, die kindliche Form, die adulte Form und die Form der Odontohypophosphatasie [2-5]. All diesen Unterformen werden charakteristische klinische Auffälligkeiten zugeordnet. Aufgrund ihrer individuell sehr unterschiedlichen Symptomatik erweist sich diese Subtyp-Einteilung im klinischen Alltag jedoch oft als sehr schwierig und imponiert teils künstlich.

2.2 Die Alkalische Phosphatase (AP)

Zum besseren Verständnis des Krankheitsbildes muss man sich mit den biochemischen Eigenschaften sowie der Funktionsweise des im Zentrum der Krankheit stehenden Enzyms beschäftigen.

Die AP ist ein homodimeres, ektoplasmatisch membrangebundenes Glykoprotein und gehört zur Gruppe der Phosphomonoesterasen. Sie katalysiert grundsätzlich folgende chemische Reaktion [6]:



Somit stellt die AP dem Organismus durch die Spaltung eines Monoesters (R-OP) anorganisches Phosphat (P_i) zu Verfügung, welches von diesem in verschiedener Art und Weise genutzt werden kann, z.B. als wichtiger Baustein der physiologischen

Knochenmineralisierung. Anhand von Tierversuchen wurde dieser Zusammenhang bereits im Jahre 1923 von Robert Robison (1883-1941) beschrieben [7].

Die AP ist durch einen Glykosyl-Inositol-Anker an der äußeren Zellmembran befestigt [8]. Sie besitzt ein pH-Optimum im alkalischen Bereich und unterscheidet sich hierdurch von den in Lysosomen vorkommenden sauren Phosphatasen, worauf die Nomenklatur basiert.

2.2.1 Struktur der Alkalischen Phosphatase

Die Struktur der AP wurde zunächst kristallografisch an *E.coli*-Bakterien untersucht [9]. Im Jahr 2001 konnte durch Le Du et al. dann erstmalig die dreidimensionale Struktur der AP eines Säugetiers (einer humanen Plazenta) dargestellt werden (siehe Abb. 1) [10].

Die AP besteht aus zwei identischen Monomeren, welche jeweils zwei Zink- und ein Magnesium-Ion enthalten. Diese Metallionen stabilisieren die tertiäre Struktur der AP und sind essentiell für die korrekte Interaktion und Allosterie der beiden Monomere und damit einhergehend auch für die regelrechte Funktion des Metalloenzym [11-13].

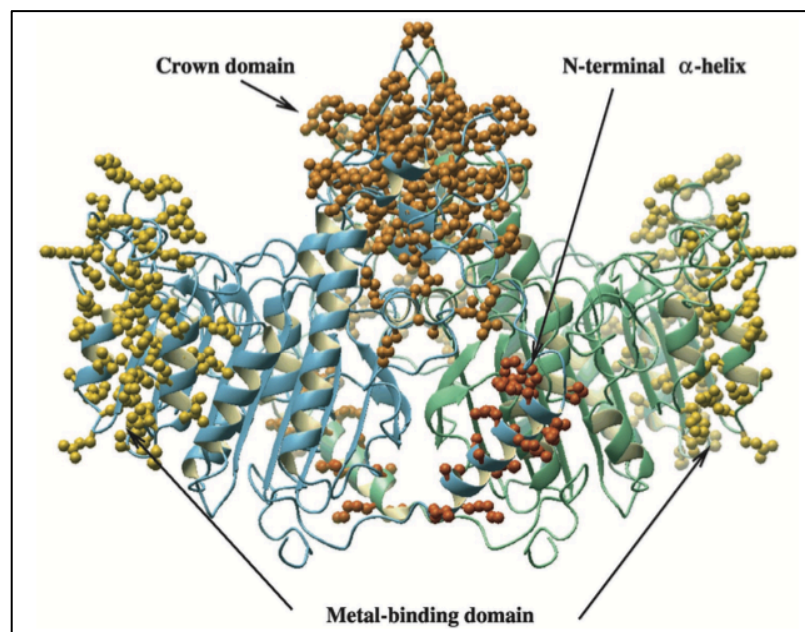


Abbildung 1: Struktur der humanen placentaren Alkalischen Phosphatase
Die Grundstruktur ist als Bändermodell, die Seitenketten zusätzlich als Kugel-Stab-Modell dargestellt. Die beiden Monomere sind grün bzw. blau eingefärbt. (Le Du et al. 2001 [10])

2.2.2 Das ALPL-Gen

Im menschlichen Organismus sind vier Gene bekannt, die für die humanen APs codieren. Die Bezeichnungen der jeweiligen Isoenzyme bezieht sich auf das Gewebe, in welchem sie primär exprimiert werden. Die Gene der plazentalen AP (PLAP), der intestinalen AP (IAP) und der Keimzell-AP (GCAP) sind auf dem Chromosom 2 (2q34-37) lokalisiert. Da sie jedoch in der Genese der HPP eine untergeordnete Rolle spielen, werden sie im Folgenden nicht weiter behandelt.

Der Genlocus der für die HPP verantwortlichen gewebeunspezifischen AP (TNSAP) ist auf dem Chromosom 1 zu finden (1p36-34) [14]. Dieser Genabschnitt (ALPL) beinhaltet 12 Exons und erstreckt sich über insgesamt 50kb (OMIM: 171760) [15].

Genmutationen des ALPL-Gens haben unterschiedlich starke Effekte auf die Funktion der TNSAP, was für die hohe Variabilität der klinischen Präsentation dieser Erkrankung mitverantwortlich ist [16-18].

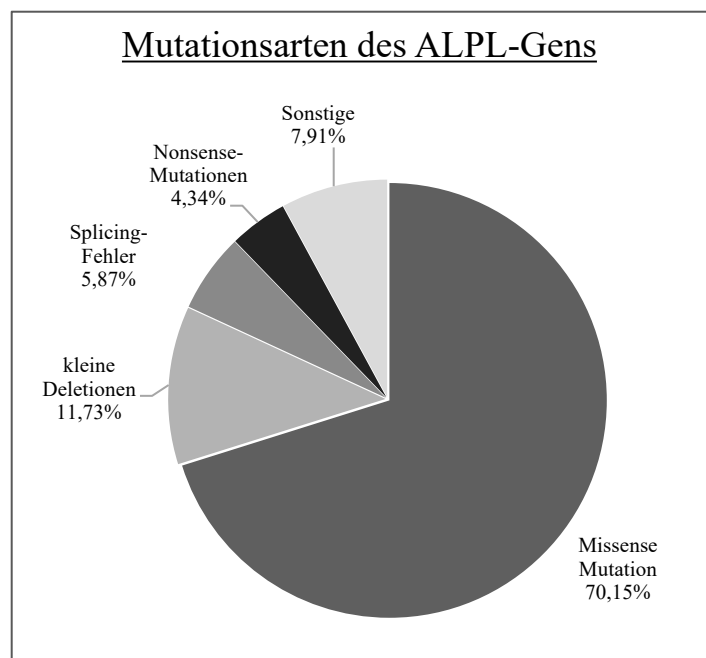


Abbildung 2: Häufigkeiten der verschiedenen Mutationsarten
Beschriebene Mutationen: 392; davon Missense-Mutationen: 275, kleine Deletionen: 46, Splicing-Fehler: 23, Nonsense-Mutationen: 17, Sonstige (kleine Insertionen, große Deletionen, Ins/Del, Regulatorische Mutationen): 31

nach Mornet E., August 2019 [19]

Die bislang entdeckten Mutationen des ALPL-Gens werden von E. Mornet in einem Internet-Register gesammelt [19]. Inzwischen zählt die Datenbank 392 verschiedene Mutationen (Stand August 2019), welche sich anhand ihrer Mutationsart (siehe Abb. 2), der Lokalisation auf dem ALPL-Gen sowie ihrer resultierenden Restaktivität der AP unterscheiden [19]. Die Genmutationen führen zu einer fehlerhaften Expression des Gens und damit zu einer defizienten Funktion oder einem vorzeitigen proteasomalen Abbau des Enzyms.

Die Folge ist eine Akkumulation der physiologisch von der AP umgesetzten Substrate. Dies spielt insbesondere für die Diagnostik der HPP eine bedeutsame Rolle (siehe Kap. 2.5.1) [20]. Die TNSAP wird ubiquitär exprimiert, vor allem jedoch in Leber-, Knochen- und Nierengewebe. Daher wird sie häufig auch als „AP vom Leber-/ Knochen- und Nierentyp“ bezeichnet.

Viele der klinisch auffälligen Patienten weisen einen compound-heterozygoten Genstatus auf. Hier besitzen die Erkrankten jeweils eine unterschiedliche Mutation des ALPL-Gens auf den beiden Allelen. Dies ermöglicht eine Vielzahl an möglichen Kombinationen und ist eine Erklärung für die hohe Variabilität der klinische Präsentation und der individuellen Ausprägung [18].

Einige dieser Mutationen sind in bestimmten Populationen gehäuft zu finden. Diese Häufungen werden mit dem sogenannten Gründereffekt erklärt, der die Selektion bestimmter Genmutationen innerhalb einer isolierten Population beschreibt. Als Beispiel ist hier die Mutation p.Gly334Asp zu nennen, welche in Kanada bei der freikirchlichen Gruppierung der Mennoniten vermehrt nachzuweisen ist [21].

Die Vererbung der HPP erfolgt meist autosomal-rezessiv, es wurden jedoch auch Mutationen mit dominantem Effekt auf die Funktion der AP beschrieben [22, 23]. Es zeigte sich, dass betroffene Patienten mit autosomal-dominantem Erbgang oftmals eine mildere Symptomatik aufweisen, als Patienten mit einer Kombination aus zwei autosomal-rezessiven Mutationen [24].

2.2.3 Funktion der AP

Die Funktion der AP ist die Spaltung von Monophosphatestern mit der Freisetzung von anorganischem Phosphat (siehe auch Kap. 2.2). Physiologische Substrate der TNSAP sind u.a. Pyrophosphat (PP_i), Pyridoxal-5'-Phosphat (PLP), Phosphoethanolamin (PEA), energiereiche Phosphate wie ADP oder ATP und Nukleotide [18, 25, 26].

Eine qualitative oder quantitative Funktionsstörung der TNAP, wie sie bei der HPP vorliegt, führt somit zu einer Akkumulation von nicht umgesetzten Substraten im Gewebe, Blut und Urin des Organismus.

2.2.3.1 Spaltung von Anorganischem Pyrophosphat (PP_i)

PP_i entsteht im Zuge der Energiegewinnung durch Hydrolyse von Adenosintriphosphat (ATP) und spielt in der Entstehung der mit der HPP in Verbindung gebrachten Symptome und hier insbesondere der muskuloskelettalen Beschwerden vermutlich eine wichtige Rolle. Bei einer Minderfunktion der AP, wie bei der HPP, kommt es zu erhöhten Werten von PP_i im Blutplasma [27]. PP_i hemmt die Bildung von Hydroxyapatit-Kristallen und ist dadurch ein potenter Inhibitor der physiologisch regelrechten Kalzifikation [17, 28, 29]. Zudem wurde nachgewiesen, dass es aufgrund der sich bildenden Kalziumpyrophosphatkristalle zu einer entzündlichen Reaktion des Organismus kommen kann [30]. Die sehr häufig im Rahmen einer HPP beschriebenen muskuloskelettalen Schmerzen sowie eine gewisse Muskelschwäche lassen sich am ehesten auf diese inflammatorische Reaktion zurückführen [31].

Das aus der Spaltung von PP_i entstehende P_i ist ein wichtiger Bestandteil der für die Knochenmineralisation benötigten Hydroxyapatit-Kristalle [32]. Die TNSAP fungiert somit durch Abbau von PP_i und der Bereitstellung von P_i als wichtiger Baustein der regelrechten Knochenmineralisierung. Weitere hieran beteiligten Enzyme sind die Ektonukleotid-Pyrophosphatase 1 (ENPP1) sowie die Phosphatase Orphan-1 (PHOSPHO1) [33-35]. Im Tiermodell zeigten PHOSPHO1^{-/-}- und ALPL^{-/-}- Knockout-Mäuse ein vollständiges Fehlen der Mineralisierung sowie der Anlage des knöchernen Skelettes [36]. Bei gezielter Ausschaltung des PHOSPHO1^{-/-} präsentierte sich eine defizitäre Knochenmineralisierung [34].

In Anlehnung an die Modelle von José Luis Millán 2013 [33] und Etienne Mornet 2015 [18] zeigt Abb. 3 einen schematischen Überblick dieser Enzyme und deren Beteiligung an der Knochenmineralisierung.

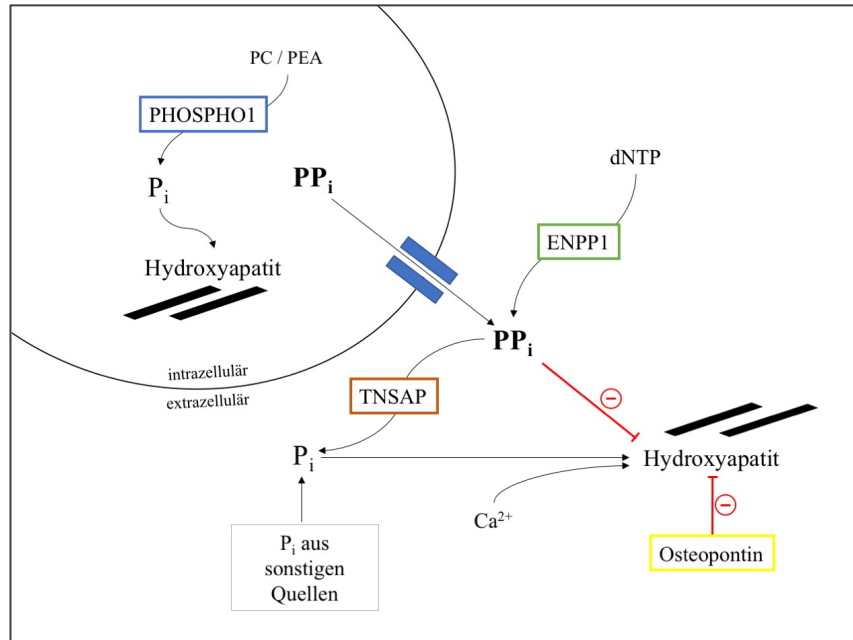


Abbildung 3: Knochenmineralisierung nach Mornet 2015 [18] und Millan 2013 [33]:

TNSAP, ENPP1 und ANKH beeinflussen direkt die extrazelluläre PP_i -Konzentration und damit auch die Knochenmineralisierung. ENPP1 spaltet dNTP, ANKH reguliert den PP_i -Transport von intrazellulär nach extrazellulär und TNSAP setzt PP_i zu anorganischem Phosphat um. Pyrophosphat stimuliert wiederum Osteoblasten zur Bildung von Osteopontin, welches die Bildung von Hydroxyapatit inhibiert. Intrazellulär ist PHOSPHO1 entscheidend an der Generierung von P_i beteiligt [19, 33].

PP_i : Pyrophosphat, P_i : anorganisches Phosphat, ANKH: PP_i -Kanal Ankylosis, ENPP1: Ektomukleotid-Pyrophosphatase 1, dNTP: Desoxyribonukleotid-triphosphat, TNSAP: gewebeunspezifische Alkalische Phosphatase, Ca^{2+} : Kalziumion

2.2.3.2 Spaltung von Pyridoxal-5'-phosphat (PLP)

PLP ist die aktive Form des Pyridoxins (Vit. B₆) und ein Cofaktor vieler biochemischer Prozesse im menschlichen Körper. So z.B. bei der Synthese wichtiger Neurotransmitter wie γ -Aminobuttersäure (GABA), Serotonin oder Dopamin. Das Auftreten von Vit.-B₆-responsiblen Krampfanfällen sowie ein erhöhter Blutplasmaspiegel von PLP sind Anzeichen dafür, dass die AP auch im Vit.-B₆-Stoffwechsel eine bedeutsame Rolle spielt

[26, 37]. Die Dephosphorylierung von PLP zu Pyridoxal (PL) wird durch die TNSAP katalysiert. Dieser Schritt ist Voraussetzung für die Überwindung von Plasmamembranen und der Blut-Hirn-Schranke [17, 20, 38]. Im Anschluss wird PL intrazellulär wieder zu PLP phosphoryliert und kann dort die physiologischen Funktionen als Cofaktor erfüllen [38].

Ist die Funktion der AP wie bei der HPP erniedrigt, resultiert daraus dementsprechend ein Anstieg von PLP im Plasma. Und auch umgekehrt wird bei einem Anstieg der AP, wie z.B. im Rahmen von Lebererkrankungen, eine Erniedrigung der PLP-Spiegel beobachtet [39].

2.2.3.3 Phosphoethanolamin (PEA)

PEA ist sowohl im Blut als auch im Urin von HPP-Patienten erhöht und wird daher ebenfalls zur Diagnostik der HPP genutzt. Die genaue Ursache dieses Anstiegs ist jedoch bislang nicht geklärt. PEA ist Teil des GPI-Ankers, welcher die TNSAP in der Zellmembran befestigt [40]. Ein Grund für den PEA-Anstieg in Blut und Urin könnte die verminderte Aktivität der O-Phosphoethanolamin-Phospholyase, welche PEA hydrolysiert und damit zum Abbau von PEA führt [41].

Dieser Schritt erfordert wiederum PLP als Cofaktor, welches bei verminderter Funktion der TNSAP intrazellulär reduziert ist (siehe Kap. 2.2.3.2).

2.2.3.4 Spaltung von Nukleotiden (dNTP)

Die TNSAP besitzt auch die Fähigkeit, Nukleotide und Nukleoside zu spalten. Dadurch ist die TNSAP in der Lage, ähnlich wie die Prostata-spezifische saure Phosphatase (PAP) und die Ecto-5'-Nukleotidase (NT5E), dem Organismus Adenosin bereitzustellen [42, 43]. Adenosin spielt laut aktuellen Forschungsarbeiten neben zahlreichen Funktionen im menschlichen Organismus u.a. eine wichtige Rolle in der regelrechten Schmerzübertragung auf spinaler Ebene. Eine Funktionseinschränkung der TNSAP steht somit als Ursache für die Entstehung chronischer Schmerzzustände zur Diskussion und stellt einen Ansatz für mögliche zukünftige Schmerztherapien dar [44, 45].

2.3 Epidemiologie der HPP

Aufgrund der variablen Symptomatik und der häufig auch subklinisch verlaufenden Erscheinung dieser seltenen Erkrankung muss mit einer hohen Dunkelziffer an nicht diagnostizierten Patienten gerechnet werden. Daher ist es schwierig, Prävalenz und Inzidenz der HPP zu bestimmen.

Eine Studie aus dem Jahre 1957 schätzt die Inzidenz von schweren HPP-Fällen im Großraum Toronto (Kanada) auf 1/100 000 Geburten [46]. Inwieweit diese Zahlen auch für andere Teile der Welt gelten, muss sehr kritisch diskutiert werden. Infolge eines sog. Gründereffekts (siehe auch S. 5), also des gehäuften Vorkommens bestimmter Gene innerhalb einer Population, kann man in Kanada von einer im Vergleich zu Europa höheren Inzidenz von HPP-Erkrankungen ausgehen [18, 21].

Eine andere Arbeit von 2011 gibt die Inzidenz schwerer HPP-Formen mit 1/297 000 in Frankreich und mit 1/339 000 in Westeuropa an. Die Prävalenz milder HPP-Formen wird für Europa basierend auf das Hardy-Weinberg-Gesetz mit 1/6370 angegeben. Diese Werte basieren auf einer von E. Mornet durchgeführten Datenerhebung molekulargenetischer Untersuchungen von 2000-2009 [47].

2.4 Symptomatik der HPP

Das Krankheitsbild der HPP umfasst ein breites Spektrum an möglichen Symptomen. Diese Bandbreite erstreckt sich von gänzlich fehlender Mineralisierung des fetalen Knochenskeletts und dem dadurch bereits *in utero* eintretenden Tod, bis zur lediglich die Zähne betreffenden milden Odontohypophosphatasie [17]. Ein Zusammenhang zwischen der *in-vitro*-Aktivität der AP und der klinischen Ausprägung wurde bereits beschrieben [48]. Aufgrund dieser klinischen Vielschichtigkeit fällt es insbesondere bei mildereren Verlaufsformen oftmals schwer, zügig die Diagnose HPP zu stellen.

Geht es um die Klinik der HPP, werden fünf Formen unterschieden, die sich anhand des Manifestationsbeginns und des klinischen Bildes unterscheiden und im Folgenden genauer behandelt werden.

2.4.1 Perinatale Form der HPP

Bei der sog. perinatalen Form der HPP ist die Prognose unbehandelt infaust, da bereits Neugeborene mit massiv hypomineralisierten und stark deformierten Knochen geboren werden [49]. Aufgrund schwerer Mineralisierungsstörungen des Thorax zeigen die Patienten oftmals ausgeprägte thorakale Deformitäten und eine Hypoplasie der Lunge. Zusätzlich kann es zu einer unkontrollierbaren Störung des Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels und Vit.-B₆-responsiblen Krampfanfällen kommen, sodass die meisten Patienten bereits intrauterin oder wenige Tage post partum versterben. Des Weiteren sind blaue Skleren, Knochensporne und das Auftreten von Polyhydramnie im Zusammenhang mit diesem Subtyp beschrieben [50, 51]. Die für die Krankheit typischen und diagnostisch wichtigen radiologischen Auffälligkeiten sind in Kap. 2.5.2 aufgeführt.

Die Prognose des perinatalen Subtyps wird v.a. durch die pulmonalen und zerebralen Manifestationen beeinflusst [17].

Interessanterweise ist auch eine weitere Entität beschrieben, welche als pränatal-benigne Form bezeichnet wird. Bei dieser weisen die betroffenen Patienten in der sonografischen Pränataldiagnostik deutliche Zeichen einer schweren Knochenmineralisierungsstörung mit stark gebogenen Röhrenknochen auf. Diese Veränderungen bessern sich jedoch bereits im dritten Trimester und können sich post partum nahezu vollständig regredient zeigen. Folglich leiden die Betroffenen dann nur noch unter sehr geringen bis gar keinen Einschränkungen [52, 53].

2.4.2 Infantile Form der HPP

Einen etwas anderen Verlauf weist die infantile HPP auf, welche sich im Säuglingsalter vor dem Vollenden des sechsten Lebensmonats manifestiert [17, 54]. Die Patienten fallen oftmals durch eine Gedeihstörung unbekannter Ursache auf oder zeigen rachitische Symptome. Paradoxerweise leiden die Patienten häufig auch an einer vorzeitigen Verknöcherung der Schädelnähte, sog. Kraniosynostosen. Diese können Liquorzirkulationsstörungen und chronische Hirndruckerhöhung zur Folge haben [24, 55]. Auch sog. Chiari-I-Malformationen, also eine Verlagerung der Kleinhirntonsillen nach kaudal in den Spinalkanal sowie die Bildung von einer Hydrosyringomyelie sind beschrieben [51]. Hinzu kommen eine muskuläre Hypotonie, Schluckbeschwerden und durch eine Hyperkalziurie bedingte Nephrokalzinose [51].

2.4.3 Kindliche Form der HPP

Anhand der Symptomatik ist der kindliche Subtyp von der infantilen Form nur eingeschränkt abzugrenzen, da diese beiden Unterformen viele Gemeinsamkeiten aufweisen und sich deutlich überschneiden. Per definitionem wird die kindliche Form der HPP erst nach Vollenden des sechsten Lebensmonats symptomatisch und klinisch relevant. Auch bei dieser Form kommt es meist zu rachitischer Symptomatik mit Gedeihstörung und Kleinwuchs [56, 57]. Die rachitischen Auffälligkeiten können jedoch auch nur radiologisch nachweisbar und klinisch nicht relevant sein [54].

Die Patienten neigen häufig vermehrt zu Knochenbrüchen, ohne dass diese mit einem suffizienten Trauma einhergehen. Gerade bei diesen sog. pathologischen Frakturen wird nur selten eine HPP als primäre Ursache der Beschwerden ausgemacht [58].

Die Patienten zeigen häufig motorische Entwicklungsverzögerungen, sodass sie z.B. verspätet Laufen lernen oder häufig durch eine Art Watschelgang auffallen, welcher in erster Linie auf die Knochendeformitäten und eine generelle muskuläre Hypotonie zurückzuführen ist [17, 51]. Auch beim kindlichen Subtyp sind frühzeitige Kraniosynostosen beschrieben, welche zu Deformitäten des Schädels, wie z.B. einem Skaphocephalus bei vorzeitigem Verschluss der Sagittalnaht, führen können [24]. Inflammatorische Prozesse führen dazu, dass die Patienten oftmals chronische Schmerzen beklagen, insbesondere in den unteren Extremitäten, was die Patienten oftmals in alltäglichen oder sportlichen Aktivitäten einschränkt [3, 59]. Ebenso können Zahnprobleme ein erster Hinweis auf eine Erkrankung an HPP sein [17]. Hierbei fallen die Betroffenen durch starken Kariesbefall oder durch frühzeitigen Milchzahnausfall auf, weshalb sie sich dann in zahnärztliche Behandlung begeben [60, 61]. Ferner sind gastrointestinale Probleme, Übelkeit und Appetitminderung beschrieben [17].

In magnetresonanztomografischen Aufnahmen zeigen sich teils intraossäre, ödematöse Läsionen, welche die radiologischen Kriterien einer chronischen nicht-bakteriellen Osteomyelitis (CNO) erfüllen. Diese chronische Autoinflammation kann zu Schwellungen und Schmerzen der Knochen führen, ohne das Vorliegen einer laborchemischen Entzündung [30, 62-64]. Treten die Symptome erst im Jugendalter auf, so wird teils auch der Begriff der juvenilen HPP verwendet.

2.4.4 Adulte Form der HPP

Die adulte Form der HPP zeichnet sich durch das Auftreten verschiedener Symptome im mittleren bis höheren Erwachsenenalter aus. Oftmals sind Patienten bereits in der Kindheit mit milden rachitischen Symptomen aufgefallen. Ein reduzierter Mineralsalzgehalt der Knochen wird bei älteren Patienten häufig und fälschlicherweise primär als Osteoporose fehlgedeutet und dementsprechend therapiert [17]. Bereits durch geringe Belastung kann es zu pathologischen Stress- und Ermüdungsfrakturen kommen, was den Patienten starke Schmerzen bereiten kann und weshalb sie häufig ärztlichen Rat in Anspruch nehmen [24]. Oftmals zeigen die Patienten eine verzögerte Frakturheilung oder sie können wie auch bei der kindlichen Form eine CNO entwickeln [62].

Ein schlechter Zahnstatus mit vorzeitigem Zahnverlust zählt ebenso zum klinischen Spektrum der adulten HPP wie auch eine Einschränkung der Nierenfunktion und Neigung zur Bildung von Nierensteinen. Des Weiteren wird bei Patienten mit adulter HPP eine erhöhte Prävalenz von Depression und Angstzuständen beobachtet [17].

2.4.5 Odonto-HPP

Die Odontohypophosphatasie zeichnet sich durch das solitäre Auftreten von dentalen Manifestationen ohne eine zusätzliche systemische oder ossäre Beteiligung aus. Vorzeitiger Zahnverlust bleibt häufig das einzige Symptom und betrifft oftmals primär die Schneidezähne [60, 61]. Im Zuge der Odonto-HPP kommt es zu einer verminderten Bildung und Mineralisierung des Zahnzements und damit zu einer fehlerhaften Zahnstruktur, was oftmals mit einem massiven Kariesbefall der Zähne einhergeht [65]. Auch der Zahnhalteapparat kann betroffen sein, was sich in einer Abflachung des Alveolarknochens zeigt [66].

2.5 Diagnostik der HPP

Bei einem Verdacht auf HPP und entsprechend klinischer Symptomatik sollte eine gezielte Diagnostik zur Sicherung der HPP als Ursache der Beschwerden veranlasst werden. Hierzu gehören laborchemische Blut- und Urinuntersuchungen, verschiedene radiologische Verfahren sowie eine genetische Testung des ALPL-Gens.

2.5.1 Laborchemische Diagnostik

Ein erniedrigter Wert der AP im Serum verleiht der Krankheit ihren Namen und ist ein wesentliches Kriterium für die Diagnose HPP. Auch die Aktivität der TNSAP in Leukozyten ist vermindert und kann laborchemisch bestimmt werden.

Es gilt zu beachten, dass die Aktivität der AP je nach Alter und Geschlecht sowie je nach Untersuchungs- und Laborbedingungen stark variieren und zudem auch durch eine Vielzahl anderer Erkrankungen beeinflusst werden kann. Ein erniedrigter Wert der AP ist in Kombination mit der entsprechenden klinischen Symptomatik ein dringender Hinweis auf eine vorliegende HPP, keinesfalls ist dieser jedoch spezifisch für die HPP [17, 24, 51]. Differentialdiagnostisch ist ein erniedrigter Wert der AP im Serum u.a. auch in der frühen Schwangerschaft oder bei Ernährungsmangelzuständen nachweisbar [25].

Laborchemische Normwerte:	
Alkalische Phosphatase (AP) im Serum (37°C, IFCC Methode)	
Säuglinge:	110-590 IU/l
Kleinkinder:	110-550 IU/l
Schulkinder:	130-700 IU/l
Frauen:	55-147 IU/l
Männer:	62-176 IU/l
Pyridoxalphosphat (PLP) im Plasma	
	5-30 ng/ml
Phosphoethanolamin (PEA)	
im Serum/Plasma:	0-60 µmol/l
im Urin:	9-25 mmol/mol Kreatinin

*Tabelle 1: Normwerte der für die Diagnose der HPP wichtigen Laborparameter
Die Normwerte können je nach Laborbedingungen, Alter und Geschlecht der Patienten abweichen (nach Beck C. et al. [51]).*

Viele Laboreinrichtungen haben in der Vergangenheit keinen unteren Grenzwert für die AP definiert. Dies legt nahe, dass eine Unterschreitung oftmals erst gar nicht als pathologisch erachtet wurde und die HPP somit nicht als mögliche Differentialdiagnose in Betracht kam.

In Kenntnis der Pathogenese der HPP ist davon auszugehen, dass der Schweregrad der Symptomatik mit der Restaktivität der AP korreliert. So kann beispielsweise bei schwerwiegenden perinatalen Formen der HPP kaum noch Restaktivität der AP bestimmt werden, während mildere Formen, wie z.B. die kindliche HPP, mitunter Werte im niedrig normalen Bereich aufweisen [48, 51].

Bei Funktionsminderung sind die physiologischen Substrate der AP vermehrt in Blut und Urin nachweisbar und können somit ebenfalls zur Diagnosesicherung verwendet werden (siehe auch Kap. 2.2.3). Hierzu zählt PLP, PP_i und PEA. PEA ist im klinischen Alltag nur wenig aussagekräftig und wird meist nur zusätzlich bestimmt.

Die Erhöhung von PLP scheint hingegen durchaus mit der Ausprägung und dem Schweregrad der Manifestation zu korrelieren [17].

Zusätzlich sollten routinemäßig die Parameter des Ca^{2+} - und P-Stoffwechsels (Ca und P in Serum und Urin, Parathormon, 25-OH-Vit.-D) bestimmt werden.

2.5.2 Radiologische Diagnostik

Pädiatrische Patienten mit einer HPP weisen oftmals eine defiziente Knochenmineralisierung und damit einhergehend eine Erniedrigung der Knochendichte auf; in der Röntgendiagnostik zeigt sich eine Transparenzerhöhung als Zeichen der Osteopenie. Es findet sich jedoch ebenfalls häufig ein Nebeneinander von mehr- oder mindersklerosierten Arealen. In schweren Fällen der perinatalen Form können jedoch knöcherne Strukturen gar vollständig fehlen oder lediglich sporadisch angelegt sein [17]. Weiter finden sich die typischen Zeichen einer Rachitis, wie z.B. Auftreibungen der Metaphysen oder der kostalen Knorpel-Knochen-Grenzen, bekannt als sog. „rachitischer Rosenkranz“.

Des Weiteren wurde bei mehreren Patienten ein sog. „Bowdler-Sporn“, eine knöcherne Ausziehung der Fibula oder selten anderer langer Röhrenknochen, als HPP-typisches radiologisches Zeichen identifiziert [67]. Eine mögliche Nierenbeteiligung in Form einer Nephrokalzinose ist mittels sonografischer Untersuchung abzuklären.

Ödematöse Läsionen in magnetresonanztomografischen Aufnahmen der Knochen können auf inflammatorische Prozesse im Sinne einer chronischen nicht-bakteriellen Osteomyelitis hinweisen und werden gehäuft bei HPP-Patienten beschrieben [64]. Daher ist der Einsatz der Magnetresonanztomografie ein recht sensitives, jedoch bislang wenig spezifisches diagnostisches Mittel [17].

Regelmäßige Messungen der Knochendichte mittels peripherer quantitativer Computertomografie (pQCT) oder Dual-Energy-Absorptiometrie (DEXA) als wichtige Untersuchungen zur Einschätzung der Qualität des Knochens können hilfreich zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs oder eines Therapieeffekts. Sie ermöglichen es, die Knochenstrukturen quantitativ zu bewerten [2, 17].

Die radiologischen Zeichen sind jedoch keinesfalls pathognomonisch für die HPP. Vielmehr treten sie auch im Zusammenhang mit anderen Knochenerkrankungen auf und müssen daher mithilfe der anderen diagnostischen Verfahren differenziert werden.

2.5.3 Genetische Diagnostik

Der molekulargenetische Nachweis einer Mutation im ALPL-Gen kann zur definitiven Bestätigung der klinischen und laborchemischen Verdachtsdiagnose HPP herangezogen werden und ist mittels Screening der 12 relativ kleinen Exons des ALPL-Gens recht einfach durchzuführen. Sind jedoch Intron-Mutationen oder Veränderungen in regulatorischen DNS-Bereichen ursächlich, so werden diese beim Screening ggf. nicht detektiert [18].

Die Mutationen werden durch Sequenzierung der elterlichen DNA oder eines weiteren unabhängigen PCR-Produkts bestätigt. Bei Vorhandensein einer Mutation wird diese in 95% der Fälle durch die Gensequenzierung detektiert (Sensitivität), während die Testung bei negativem Genotyp in nahezu 100% auch negativ ausfällt (Spezifität). Der positive prädiktive Wert dieser Methode beträgt bei rezessivem Erbgang nahezu 100%, bei dominantem Erbgang milder Erkrankung etwa 30-40%, je nach Mutation variierend. Der negative prädiktive Wert bei negativem Testergebnis wird mit 95-100% angegeben [16].

2.5.4 Pränataldiagnostik

Die pränatale Sonografie liefert mögliche Hinweise, die bereits vor der Geburt den Verdacht auf eine HPP lenken können. Hierzu zählen z.B. verkürzte Extremitäten oder ein verminderter Thoraxumfang. Es ist jedoch kaum möglich anhand dieser Befunde andere dysplastische Knochenerkrankungen, wie beispielsweise eine Osteogenesis imperfecta oder Achondroplasie, auszuschließen.

Lückenhafte Knochenstrukturen, eine Hypomineralisation des Thorax, Y-förmige metaphysäre Veränderungen oder die Ausbildung von Knochensporen scheinen hier am ehesten den Verdacht auf eine HPP zu lenken [68].

Eine Chorionzottenbiopsie mit anschließender Messung der TNSAP-Aktivität ermöglicht es bereits im ersten Trimester Aussagen bezüglich einer Erkrankungswahrscheinlichkeit des Feten zu treffen [69]. Besonders Familien mit bereits bekannter Vorbelastung ist eine humangenetische Beratung und eine intensive pränatale Betreuung anzuraten. Auch ein Schwangerschaftsabbruch ist ggf. kritisch mit den Familien zu diskutieren.

2.5.5 Differentialdiagnosen

Je nach Alter des betroffenen Patienten gibt es viele andere Diagnosen, die der HPP in ihrer klinischen Präsentation sehr ähneln und aufgrund der Seltenheit der HPP oftmals als primäre Verdachtsdiagnosen abgeklärt bzw. ausgeschlossen werden müssen.

In utero sind hier v.a. die Osteogenesis imperfecta vom Typ II, die Kampomele Dysplasie und andere chondrodysplastische Erkrankungen zu nennen [24]. Diese können durch sehr erfahrene Pränataldiagnostiker jedoch anhand sonografischer Untersuchungen oder sogar fetaler Röntgenaufnahmen differenziert werden (siehe auch Kap. 2.5.4).

Bei Geburt kommt es darauf an bei entsprechenden klinischen Auffälligkeiten und dem Verdacht auf eine der oben genannten Erkrankungen auch immer die HPP als Differentialdiagnose zu kennen und differentialdiagnostisch auszuschließen, z.B. durch laborchemische Messung der AP-Aktivität ihrer Substrate sowie durch radiologische Verfahren [24].

Treten nach initial unauffälligem Verlauf die ersten Symptome in der frühen Kindheit auf, so stehen meistens zunächst andere angeborene Stoffwechselstörungen, wie die verschiedenen Formen der Rachitis oder die organische Azidurie im Mittelpunkt der Diagnostik [17, 24].

Die in der MRT als unklare Raumforderungen imponierenden inflammatorischen Knochenläsionen, wie sie bei der CNO zu finden sind, können den Verdacht zunächst auch auf maligne Prozesse wie Osteosarkome oder Histiozytome lenken und die Diagnose der HPP verzögern [62].

Leiden die Betroffenen erst im Erwachsenenalter unter Symptomen der HPP, so werden oftmals geläufigere Diagnosen wie eine Osteoporose, Arthritiden oder eine Pseudogicht als Ursache der Beschwerden ausgemacht.

Wichtig ist, dass die Existenz der Erkrankung HPP bekannt ist und bei hierzu passenden Symptomkomplexen die richtigen diagnostischen Schritte eingeleitet werden. Nur so ist es möglich, diese zwar seltene aber durchaus wichtige Erkrankung korrekt diagnostizieren zu können.

2.6 Therapie der HPP

Die Behandlung der HPP stellt eine große Herausforderung dar, die nur in interdisziplinärer Zusammenarbeit suffizient geleistet werden kann. Da es noch immer keinen kurativen Therapieansatz gibt, muss die Linderung der Symptome und damit einhergehend eine Verbesserung der Lebensqualität das primäre Therapieziel sein.

Im Mittelpunkt stehen hierbei die Schmerzen, der Schutz der Nierenfunktion, psychologische sowie psychiatrische Einschränkungen, Zahnprobleme sowie der Schutz bzw. die Förderung der muskuloskelettalen und motorischen Entwicklung [17]. Dieses breite Spektrum zeigt deutlich, dass eine gemeinschaftliche Betreuung durch Endokrinologen, Nephrologen, Neurologen, Neurochirurgen, Pädiater, Orthopäden, Zahnmedizinern sowie Schmerz- und Physiotherapeuten nötig ist [5].

2.6.1 Multimodale Betreuung

Der Einsatz von nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) senkt die bei HPP-Patienten erhöhte Serumkonzentration von Prostaglandin E₂ und verbessert die Lebensqualität der Betroffenen nachweislich [3, 17, 59]. Dies äußert sich in einer Steigerung der Muskelkraft, einer verlängerten Laufstrecke und einer Verminderung der subjektiv empfundenen Schmerzen. Als Therapieschema hat sich eine 8-wöchige Therapie mit

NSAIDs mit anschließend 4-wöchiger Pause als wirksam erwiesen [59]. Auch bei CNO sind NSAIDs Therapie der ersten Wahl.

Eine Therapie mit Teriparatid, einem rekombinanten Fragment des Parathormons, wird kontrovers diskutiert und wurde bislang noch nicht in einer größeren einheitlichen Studie getestet [70-72].

Die in der Neonatologie bei Hyperkalzämie häufig eingesetzten Bisphosphonate führen bei HPP-Patienten zu keinem Benefit und sollen vermieden werden [73].

Eine Substitution mit Vit. D kann in physiologischer Dosierung erfolgen, jedoch wird von einer hochdosierten Vit.-D-Therapie abgeraten [51].

Lebensbedrohliche neurologische Symptome in Form von Krampfanfällen haben einen großen Einfluss auf die Prognose und das Outcome der Patienten. Die Krampfanfälle sind in der Regel pyridoxinresponsibel und sprechen entsprechend gut auf die Gabe von Pyridoxin/Vit. B₆ an [74, 75].

Wie bereits betont profitieren die Patienten mit einer HPP von einer interdisziplinären Betreuung. Nur so können die unterschiedlichen Symptome suffizient behandelt und den Patienten die bestmögliche Therapie ermöglicht werden. Hierzu zählt die physio- und ergotherapeutische Betreuung, wodurch sich die körperliche Aktivität und feinmotorische Defizite verbessern lassen. Um dem Auftreten orthopädischer Deformitäten zu begegnen und die Stabilität des Achsenskeletts zu unterstützen kann das Anlegen eines Korsetts oder anderer Orthesen indiziert sein. Bei Entwicklungsverzögerung der Sprache ist zudem eine logopädische Therapie hilfreich.

Aufgrund der Gefahr des intrakraniellen Druckanstiegs durch frühzeitige Verknöcherung der Schädelnähte sind regelmäßige augenärztliche Kontrollen sowie gegebenenfalls eine neurochirurgische Vorstellung notwendig, um so mögliche neurologische Schäden rechtzeitig erkennen und entsprechend intervenieren zu können. Im Falle einer sich intrakraniellen Druckerhöhung kann eine neurochirurgische Intervention, z.B. in Form einer Kraniotomie mit kraniofazialem Remodelling oder die Anlage eines ventrikuloperitonealen Shunts erforderlich sein [55]. Pathologische Frakturen werden je nach Indikation osteosynthetisch, z.B. mittels Implantation von Marknägeln oder Osteosyntheseplatten versorgt.

Regelmäßige und engmaschige zahnärztliche Kontrollen sind aufgrund der regelhaft auftretenden Zahnmanifestationen anzuraten.

2.6.2 Enzymersatztherapie (ERT)

Mit der ERT wird durch die Gabe von gentechnisch hergestellter TNSAP (Asfotase alfa) therapeutisch direkt an der Ursache der Erkrankung, nämlich dem Mangel an funktionsfähiger TNSAP, angesetzt. Durch das Anfügen einer Deca-Aspartat-Sequenz wird erreicht, dass das Enzym eine hohe Affinität zu den knöchernen Strukturen besitzt, was für die Wirkung der AP am Knochen essentiell zu sein scheint. Eine alleinige Erhöhung der freien TNSAP-Konzentration im Plasma zeigte nämlich keine relevante Verbesserung der klinischen Symptomatik [76]. Die Wirkung dieser Therapie wurde zunächst an Knockout-Mäusen gezeigt und später in multinationalen Phase-II-Studien bei Kindern mit perinataler/infantiler HPP bestätigt [31, 77, 78].

Im Jahr 2015 wurde das Medikament Strensiq™ (Wirkstoff: Asfotase alfa) für den Einsatz bei kindlicher HPP zur Langzeittherapie der Knochenmanifestation zugelassen und von der FDA als „breakthrough therapy“ ausgewiesen.

Die ERT bietet eine neue Therapiemöglichkeit, insbesondere für schwer betroffene Patienten mit HPP.

3. Zielsetzung

Eine der ersten systematischen Arbeiten über die Nosologie der HPP stammt von Donald Fraser aus dem Jahr 1957 [46]. Diese Erkenntnisse wurden seitdem durch viele weitere klinische Beobachtungsstudien und Fallberichte ergänzt und an die Weiterentwicklung der diagnostischen Möglichkeiten adaptiert. Es ist bekannt, dass die HPP sich als Knochen- und Systemerkrankung klinisch sehr variabel manifestieren kann, was neben der Seltenheit der Erkrankung eine zeitnahe Diagnosestellung erschwert. Dies führt womöglich dazu, dass den betroffenen Patienten Therapieoptionen vorenthalten oder der Therapiebeginn an sich verzögert wird.

Eine Grundvoraussetzung für die Diagnosestellung ist zunächst die HPP trotz ihrer Seltenheit als mögliche Differentialdiagnose zu kennen. Nur so können die gebotenen Symptome entsprechend eingeordnet und die HPP als mögliche Ursache der Beschwerden überhaupt abgeklärt werden. Denn ist der Verdacht auf eine HPP einmal gestellt, so kann dieser mit recht einfachen diagnostischen Mitteln zügig abgeklärt werden.

Unsere retrospektive Analyse der demografischen und klinischen Daten von 50 pädiatrischen Patienten mit bereits diagnostizierter HPP soll einen Teil dazu beitragen, das Verständnis der Erkrankung sowohl in der Klinik als auch im niedergelassenen Bereich zu verbessern und auf die vielen möglichen Fallstricke hinweisen, die zu einer Verzögerung der Diagnosestellung führen können.

Es ist notwendig, dieser sehr seltenen Erkrankung die nötige Aufmerksamkeit zu schenken, um so die HPP als differentialdiagnostische Option bei einer Vielzahl von Beschwerden zu etablieren. Nur so können die entsprechenden diagnostischen Schritte zur Abklärung und zeitnahen Diagnosestellung eingeleitet und damit möglicherweise schwere Komplikationen verhindert oder die Lebensqualität der Betroffenen verbessert werden.

4. Methoden und Auswahl der Patienten

4.1 Auswahl der Patienten

Im Zuge der hier vorliegenden Arbeit wurden die demografischen und klinischen Daten von Patienten, die in den letzten 25 Jahren an der Kinderklinik der Julius-Maximilian-Universität Würzburg mit der gesicherten Diagnose HPP betreut und behandelt wurden, retrospektiv aufgearbeitet.

Die Auswahl der Patienten richtete sich nach im Vorfeld der Datenakquirierung definierten Kriterien. Anhand einer bereits im Rahmen vorheriger Studien von Priv.-Doz. Dr. Christine Hofmann angelegten Patientenliste sowie mithilfe der SAP® -Datensuche wurden daraufhin die erfordernten Patientendaten gesammelt.

Die im Vorfeld definierten Auswahlkriterien waren:

- ein erniedrigter Laborwert der Alkalischen Phosphatase im Serum mit zur HPP passender klinischer Symptomatik
- und/oder
- eine bereits durchgeführte molekulargenetische Testung mit Nachweis einer Mutation im ALPL-Gen mit einer zur HPP passenden Klinik

Es fanden sich insgesamt 50 pädiatrische Patienten mit HPP, welche die o.g. Kriterien erfüllten und deren Akten im Archiv auffindbar bzw. deren Dokumente in der SAP®-Datenbank der Universitätskinderklinik Würzburg gespeichert waren.

4.2 Erstellen einer Microsoft Access® - Datenbank

Für die Patienten gab es größtenteils gut dokumentierte, archivierte Unterlagen. Im Rahmen der kinderrheumatologischen Sprechstunde bzw. des Zentrums für seltene Erkrankungen stellen sich die meisten der 50 Patienten regelmäßig am Universitätsklinikum Würzburg vor, sodass eine entsprechend ausführliche Dokumentation vorzufinden ist.

Als Studienzentrum der Phase-II-Studie zur Evaluation einer Enzymersatztherapie mit dem Wirkstoff Asfotase alfa (ENB-0040) wurden 14 Patienten noch vor der offiziellen Zulassung des Wirkstoffes in Follow-Up-Untersuchungen an der Universitätskinderklinik Würzburg systematisch untersucht und betreut.

So konnten anhand der ambulanten Untersuchungsprotokolle sowie der archivierten Arztbriefe und weiterer klinischen Befunde die für die Auswertung relevanten Daten gesammelt werden. Die zunächst handschriftlich festgehaltenen Daten übertrugen wir dann in eine eigens für diese Datenerfassung angelegte Microsoft-Access®-Datenbank. Den Patienten wurden gemäß der Datenschutzverordnung jeweils pseudonymisierte ID-Nummern zugeordnet.

4.2.1 Erfassung der Patientendaten

Folgende Daten wurden erfasst:

- Alter, Geschlecht
- klinische Ausprägung der HPP (Subtyp)
- Alter bei Symptombeginn
- erste Symptome
- Alter bei korrekter Diagnosestellung
- Zeitspanne zwischen Symptombeginn und korrekter Diagnose
- durch wen und anhand welcher Befunde erfolgte die Diagnosestellung
- vorherige Differential- und Fehldiagnosen

- Laborwerte (AP, PLP, PEA, Vit. D, Ca, P)
- Mutationsnachweis und Genstatus

- therapeutische Maßnahmen

Ein besonderes Augenmerk lag auf der Erfassung der im Verlauf aufgetretenen klinischen Symptome, welche wir der Übersichtlichkeit halber in mehrere Untergruppen eingeteilt hatten. Diese werden im Folgenden genauer beschrieben.

4.2.2 Einteilung der klinischen Symptomatik

4.2.2.1 Systemische Manifestation

Verzögerung der motorischen Entwicklung:

Auffälligkeiten im Bereich der motorischen Fähigkeiten, wie z.B. eine Kopfhalteschwäche bei Säuglingen, verzögertes Laufen bei Kleinkindern, muskuläre Schwäche oder muskuläre Hypotonie.

Verzögerung der sprachlichen Entwicklung:

Verzögertes Erlernen von Ein-Wort- bzw. Zwei-Wort-Sätzen oder auch andere sprachliche Einschränkungen, welche meist einer logopädischen Behandlung bedürften.

Gedeihstörung:

Das körperliche Wachstum des Kindes verläuft von Geburt an nicht gemäß den Perzentilen oder es kommt im Verlauf der Kindheit zu einem plötzlichen Schneiden der Perzentilen.

Pulmonale Beschwerden:

Respiratorische Insuffizienz und erhöhte pulmonale Infektneigung, meist aufgrund von Thoraxdeformitäten oder Lungenhypoplasie.

Kardiale Auffälligkeiten:

Hierzu zählen Herzklappenanomalien oder auffällige Herzgeräusche.

Renale Auffälligkeiten:

Sonografische Auffälligkeiten der Niere, meist in Form von Verkalkungen (Nephrokalzinose Grad I bis III) aufgrund einer erhöhten renalen Kalziumausscheidung.

Zerebrale Krampfanfälle:

Zerebrale Krampfanfälle oder andere neurologischen Symptome aufgrund einer Störung des Vit.-B₆-Stoffwechsels oder einer Erhöhung des intrakraniellen Drucks.

Gastrointestinale Beschwerden:

Starke Bauchschmerzen, regelmäßigem Erbrechen oder sonstige Auffälligkeiten des Magen-Darm-Traktes, welche aufgrund fehlender anderer Ursachen durch die HPP-Erkrankung erklärt werden können.

Schmerzen des Bewegungsapparats:

Schmerzen der Extremitäten bei Bewegung mit Einschränkung der Gehstrecke und der körperlichen Aktivität. Der ständige Wunsch getragen zu werden ist bei Kleinkindern ein wichtiges Zeichen für muskuloskelettale Schmerzen oder vorzeitige Erschöpfung.

Schluckbeschwerden:

Oftmals wurde dokumentiert, der Patient sei ein „schlechter Esser und Trinker“ oder werde im Säuglingsalter beim Trinken sehr schnell müde. Hier ist jedoch zu betonen, dass eine eindeutige Abgrenzung zur muskulären Schwäche und Hypotonie nicht möglich ist.

4.2.2.2 Knochenmanifestationen

Mineralisierungsstörungen:

Knöcherne Deformitäten, radiologische/klinische Zeichen der Rachitis oder auch radiologische Hypomineralisierung der Knochen.

Pathologische Frakturen:

Stattgehabte Knochenbrüche ohne suffiziente Krafteinwirkung, meist in Folge eines Bagatelltraumas oder gar ohne traumatisches Ereignis.

Chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis:

Ödematöse Veränderungen der Knochenstruktur und des Markraums mit Signalanhebung in der magnetresonanztomografischen Untersuchung als Zeichen einer Entzündung.

Kraniosynostosen:

Vorzeitige Verknöcherung der Schädelnähte mit Schädeldeformitäten und Hirndruckanstieg, häufig mit der Indikation für eine operative Therapie.

4.2.2.3 Zahnmanifestationen

Vorzeitiger Zahnverlust:

Frühzeitiger Verlust der Milchzähne oder von bleibenden Zähnen (trotz intakter Zahnwurzel) aufgrund eines geschädigten Zahnhalteapparats.

Verstärkter Kariesbefall:

Zahnschmelzdefekte und vermehrtes Vorkommen von Karies, was eine intensiviertere zahnmedizinische Betreuung oder auch operative Versorgung erforderte.

5. Ergebnisse

5.1 Das Patientenkollektiv

Im Rahmen dieser retrospektiven Auswertung fanden sich Daten von insgesamt 50 Patientinnen und Patienten mit der Diagnose HPP, welche sich an der Universitätskinderklinik Würzburg vorstellten und in den letzten 25 Jahren am Standort Würzburg betreut wurden.

5.1.1 Geschlechter- und Altersverteilung

Das Patientenkollektiv besteht aus 24 (48%) weiblichen und 26 (52%) männlichen Patienten. Die Altersverteilung nach Geburtsjahr der Patienten ist Abb. 4 zu entnehmen. Im Median sind die Patienten im Jahr 2005 (min. 1979, max. 2015) geboren. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung sind zwei Patienten (beide perinatalen Subtyps) im Alter von jeweils drei Monaten verstorben.

5.1.2 Einteilung in HPP-Subtypen

Anhand der vorliegenden Arztbriefe und der klinischen Symptomatik können die Patienten den unterschiedlichen Subtypen der HPP (siehe Kap. 2.4) zugeordnet werden. Die Kohorte besteht aus 4 Patienten des perinatalen Subtyps (8%), 17 Patienten des infantilen Subtyps (34%) sowie 29 Patienten des kindlichen Subtyps (58%). Abb. 4 und 5 sowie Tab. 2 veranschaulichen diese Einteilung.

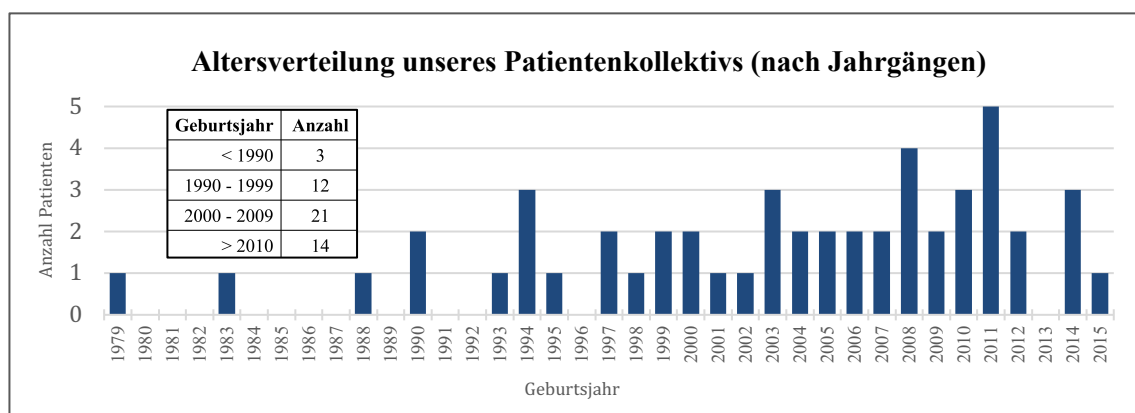


Abbildung 4: Einteilung der Patienten des Kollektivs nach Geburtsjahr

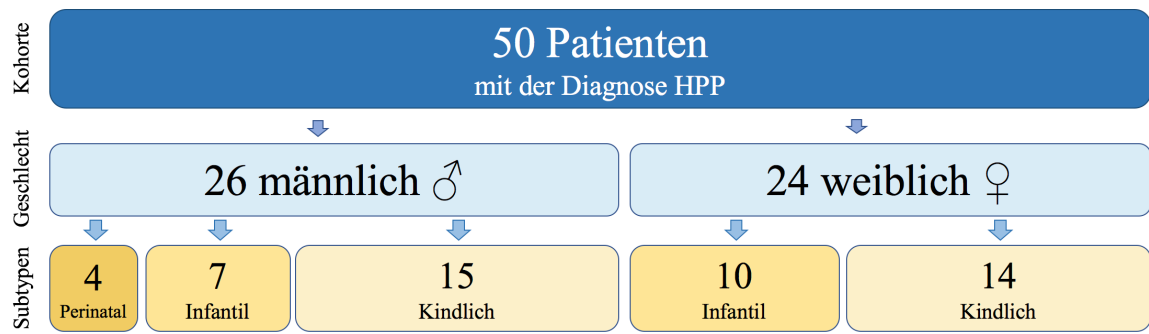


Abbildung 5: Übersicht des Patientenkollektivs mit Aufteilung nach Geschlecht und Subtyp

HPP-Subtyp	Häufigkeit
perinatale HPP	4/50 (8%)
infantile HPP	17/50 (34%)
kindliche HPP	29/50 (58%)

Tabelle 2: Häufigkeiten der HPP-Subtypen in unserem Patientenkollektiv

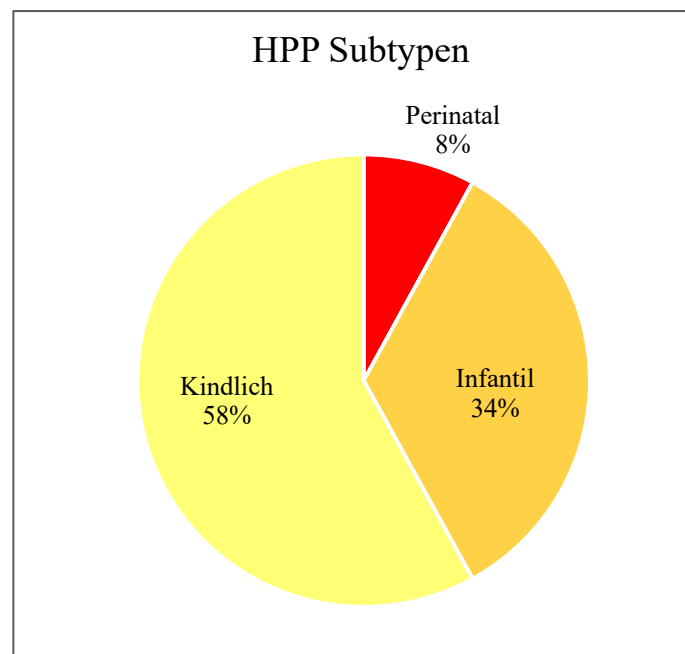


Abbildung 6: Verteilung der HPP-Subtypen in unserem Patientenkollektiv

5.2 Diagnostik

5.2.1 Alter bei Symptombeginn und Alter bei Diagnosestellung

Das mediane Alter, in dem die Patienten erstmalig symptomatisch wurden und Auffälligkeiten im Rahmen ihrer Grunderkrankung HPP zeigten, beträgt in unserer Patientenkohorte 3,5 Monate (min. 0, max. 107). Die Diagnose HPP wurde im Median mit 24 Monaten (min. 0, max. 127) gestellt. Der Zeitraum zwischen Symptombeginn und HPP-Diagnose umfasst im Median 13 Monate (min. 0, max. 103). Abb. 7 veranschaulicht dies anhand eines Boxplot-Diagramms. Tab. 3 unterscheidet zusätzlich noch zwischen den einzelnen HPP-Subtypen.

(Alter in Monaten)	Perinatale HPP	Infantile HPP	Kindliche HPP	Alle Subtypen
Medianes Alter bei Symptombeginn	0 (min. 0; max. 0)	2 (0;14)	9 (0;107)	3,5 (0;107)
Medianes Alter bei Diagnosestellung	0 (0; 0)	15 (2;49)	36 (3;127)	24 (0;127)
Mediane Dauer der Diagnostik	0 (0; 0)	12 (1;45) ♂: 12 (2;24) ♀: 9 (1;45)	22,5 (0;103) ♂: 21 (0;86) ♀: 22,5 (0;103)	13 (0;103) ♂: 13 (0;103) ♀: 15,5 (0;86)

Tab. 3: Medianes Alter der Patienten (in Monaten) bei Symptombeginn und Diagnosestellung sowie mediane Dauer bis zur Diagnosestellung

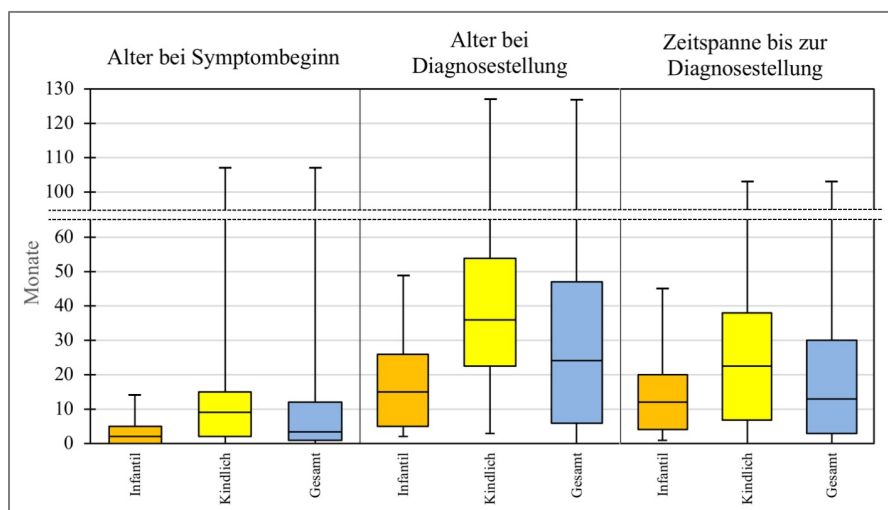


Abbildung 7: Medianes Alter bei Symptombeginn, Diagnosestellung sowie die mediane Dauer bis zur Diagnosestellung

5.2.2 Diagnosestellung

Bei insgesamt 39/50 Patienten konnte anhand der vorliegenden Dokumente nachvollzogen werden, durch wen zum ersten Mal die Verdachtsdiagnose HPP geäußert wurde. 32 der 39 (82,1%) Kinder wurden zunächst mit einem ätiologisch unklaren Beschwerdebild in eine Kinderklinik eingewiesen, wo dann die Verdachtsdiagnose HPP erstmalig geäußert wurde. Bei je 3/39 (7,7%) Patienten konnte die Verdachtsdiagnose HPP bereits durch den behandelnden, niedergelassenen Kinderarzt bzw. Zahnarzt geäußert werden. In einem Fall (2,6%) äußerte der zuständige Hausarzt bereits den Verdacht auf HPP (siehe Abb. 8).

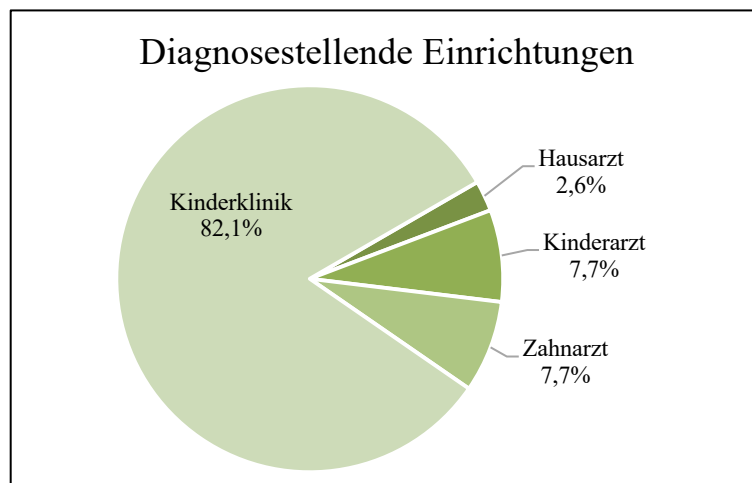


Abbildung 8: Diagnosestellende Einrichtungen

Zur Stellung der Diagnose können unterschiedliche diagnostische Mittel herangezogen werden (siehe Kap. 2.5). Abb. 9 zeigt die dokumentierten Auffälligkeiten zum Zeitpunkt der Diagnose, welche zum damaligen Zeitpunkt zur Diagnosestellung der HPP führten.

Bei 48/50 Patienten (96%) war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung in der laborchemischen Blutuntersuchung ein erniedrigter Wert der Alkalischen Phosphatase im Serum, 44/50 (88%) wiesen für die HPP typische klinische Zeichen auf. 24/50 (48%) Patienten zeigten radiologische Auffälligkeiten und bei insgesamt 29/50 (58%) Patienten wurde eine erhöhte Konzentration der AP-Substrate (PLP im Plasma bei 19 (38%) Patienten, PEA im Urin bei 16 (32%) Patienten) nachgewiesen.

Bei 9/50 (18%) der Patienten wurde bereits zur Diagnosestellung eine genetische Untersuchung durchgeführt, in der sich bekannte und HPP-assoziierte Mutationen im ALPL-Gen nachweisen ließen. In 6/50 (12%) Fällen war die hereditäre Erkrankung in der Familie bereits bekannt, sodass die HPP frühzeitig diagnostiziert werden konnte.

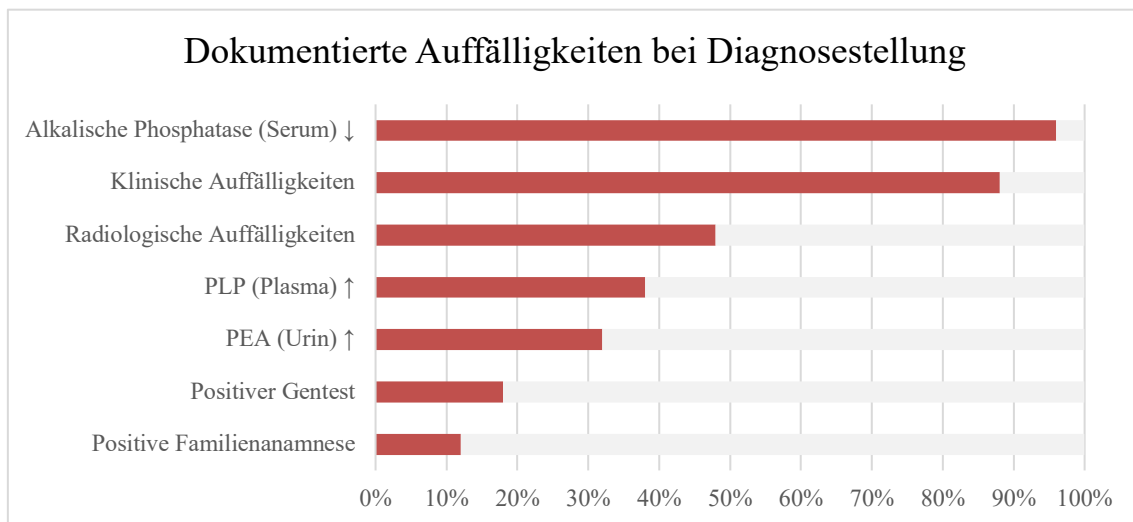


Abbildung 9: Dokumentierte Auffälligkeiten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

5.2.3 Erste Symptome im Rahmen der HPP

Eine Übersicht der Symptome und Symptomkomplexe, mit denen die Patienten unseres Kollektivs erstmalig klinisch auffällig wurden beinhaltet Tab. 4. In einigen Fällen wurden diese Auffälligkeiten zunächst nur nebenbefundlich im Arztbrief vermerkt, ohne dass ihnen eine größere Bedeutung zugesprochen wurde oder gar ein Zusammenhang mit einer systemischen Grunderkrankung wie der HPP hergestellt wurde.

Bei 17 von 50 (34%) Patienten fiel initial eine Gedeihstörung auf. Eine auffällige Kopfform, häufig mit Prominenz der Fontanelle zeigten 11/50 (22%) der Kinder. Die Gesamtzahl der Symptome übersteigt die Anzahl der Patienten, da diese teils auch mehrere Auffälligkeiten gleichzeitig zeigten.

Initial aufgetretenes Symptom	Häufigkeit
Gedeihstörung	17/50 (34%)
Kraniosynostose/auffällige Kopfform	11/50 (22%)
Vorzeitiger Zahnverlust	10/50 (20%)
Störung des Trinkverhaltens	7/50 (14%)
Respiratorische Anpassungsstörung	6/50 (12%)
Muskelschwäche	6/50 (12%)
Knochenauffälligkeiten	4/50 (8%)
Thoraxdeformitäten	4/50 (8%)
Motorische Entwicklungsverzögerung	2/50 (4%)
Parodontitis	1/50 (2%)
Muskuloskelettale Schmerzen	1/50 (2%)
Zerebrale Krampfanfälle	1/50 (2%)

Tabelle 4: Erste Symptome im Rahmen der HPP

(Die Gesamtzahl der Symptome übersteigt die Anzahl der Patienten, da in einigen Fällen mehrere Symptome gleichzeitig auftraten)

5.2.4 Vorherige Verdachtsdiagnosen

Bevor letztendlich die HPP als Ursache der Beschwerden festgestellt werden konnte, wurden bei 21/50 (42%) Patienten zunächst andere Verdachtsdiagnosen dokumentiert und differentialdiagnostisch abgeklärt.

In 10/21 Fällen (47,6%) ging man zunächst von einer Rachitis bzw. Osteomalazie als Ursache der Beschwerden aus. Im Detail bestand bei jeweils 2 Patienten der Verdacht auf Vit.-D-Mangel bzw. Vit.-D-Resistenz sowie bei einem Patienten der Verdacht auf einen Phosphatdiabetes. In fünf Fällen wurde der Verdacht auf Rachitis nicht spezifiziert.

Bezüglich der initial häufig aufgetretenen Gedeihstörung unklarer Genese wurden als mögliche ursächliche Grunderkrankung in je zwei Fällen eine Mukoviszidose (9,5%)

bzw. ein Wachstumshormonmangel (9,5%) abgeklärt. Zudem bestand mehrmals der Verdacht auf unspezifische Lebensmittelunverträglichkeiten oder eine Zöliakie.

In zwei Fällen (9,5%) wurde aufgrund der Knochen- und Skelettanomalien eine Hypo- oder Achondroplasie vermutet.

Weitere Verdachtsdiagnosen waren in je einem Fall Neurofibromatose, Polyarthrit, Hydrozephalus internus, ein Tethered-Cord-Syndrom, chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis, Langerhanszell-Histiozytose, und extradermale Dysplasie (siehe auch Tab. 5).

Differentialdiagnosen	Häufigkeit
Rachitis/Osteomalazie	10/21 (47,6%)
Vit.-D-Mangelrachitis	2/21(9,5%)
Vit.-D-Resistenz	2/21 (9,5%)
Phosphatdiabetes	1/21 (4,8%)
Hypo-/Achondroplasie	2/21 (9,5%)
Neurofibromatose	1/21 (4,8%)
Polyarthrit	1/21 (4,8%)
Hydrozephalus internus	1/21 (4,8%)
Tethered-Cord-Syndrom	1/21 (4,8%)
Chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis	1/21 (4,8%)
Langerhanszell-Histiozytose	1/21 (4,8%)
Extradermale Dysplasie	1/21 (4,8%)

Tabelle 5: Andere Verdachtsdiagnosen vor der korrekten HPP-Diagnose

5.3 Klinische Symptomatik der Patienten

Die Patienten präsentierten im Verlauf ihrer Erkrankung verschiedene Symptome, welche ätiologisch der Grunderkrankung HPP zugeordnet werden können.

Zur besseren Übersicht haben wir die verschiedenen Symptome in Übergruppen eingeteilt (siehe Kap. 4.2.2). Tab. 6 zeigt, welche Symptomatik die Patienten unseres Kollektivs im Verlauf zeigen und wie häufig diese jeweils auftraten. Abb. 10 veranschaulicht diese Werte anhand eines Balkendiagramms.

Klinische Manifestation	Perinatale HPP (n=4)	Infantile HPP (n=17)	Kindliche HPP (n=29)	Gesamt (n=50)
Systemische Manifestationen				
Motorische Entwicklung ↓	3/4 (75%)	16/17 (94%)	20/29 (69%)	39/50 (78%)
Sprachliche Entwicklung ↓	2/4 (50%)	3/17 (18%)	5/29 (17%)	10/50 (20%)
Gedeihstörung	2/4 (50%)	12/17 (71%)	17/29 (59%)	31/50 (62%)
Pulmonale Beschwerden	4/4 (100%)	11/17 (65%)	5/29 (17%)	20/50 (40%)
Kardiale Auffälligkeiten	2/4 (50%)	5/17 (29%)	6/29 (21%)	13/50 (26%)
Renale Beschwerden	2/4 (50%)	13/17 (76%)	5/29 (17%)	19/50 (38%)
Zerebrale Krampfanfälle	4/4 (100%)	0/17 (0%)	0/29 (0%)	4/50 (8%)
Gastrointestinale Beschwerden	3/4 (75%)	7/17 (41%)	6/29 (21%)	16/50 (32%)
Schmerzen Bewegungsapparat	1/4 (25%)	7/17 (41%)	16/29 (55%)	24/50 (48%)
Schluckbeschwerden	2/4 (50%)	7/17 (41%)	8/29 (28%)	17/50 (34%)
Knochenmanifestationen				
Mineralisierungsstörungen	4/4 (100%)	15/17 (88%)	18/29 (62%)	36/50 (72%)
Pathologische Frakturen	1/4 (25%)	4/17 (24%)	1/29 (3%)	6/50 (12%)
Chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis	0/4 (0%)	4/17 (24%)	3/29 (10%)	7/50 (14%)
Kraniosynostose	3/4 (75%)	13/17 (76%)	8/29 (28%)	24/50 (48%)
Zahnmanifestationen				
Vorzeitiger Zahnverlust	2/4 (50%)	10/17 (59%)	20/29 (69%)	32/50 (64%)
Karies/Zahnschmelzdefekte	1/4 (25%)	2/17 (12%)	7/29 (24%)	10/50 (20%)

Tabelle 6: Klinische Auffälligkeiten im Rahmen der HPP (Systemische Manifestationen, Knochen- und Zahnmanifestationen)

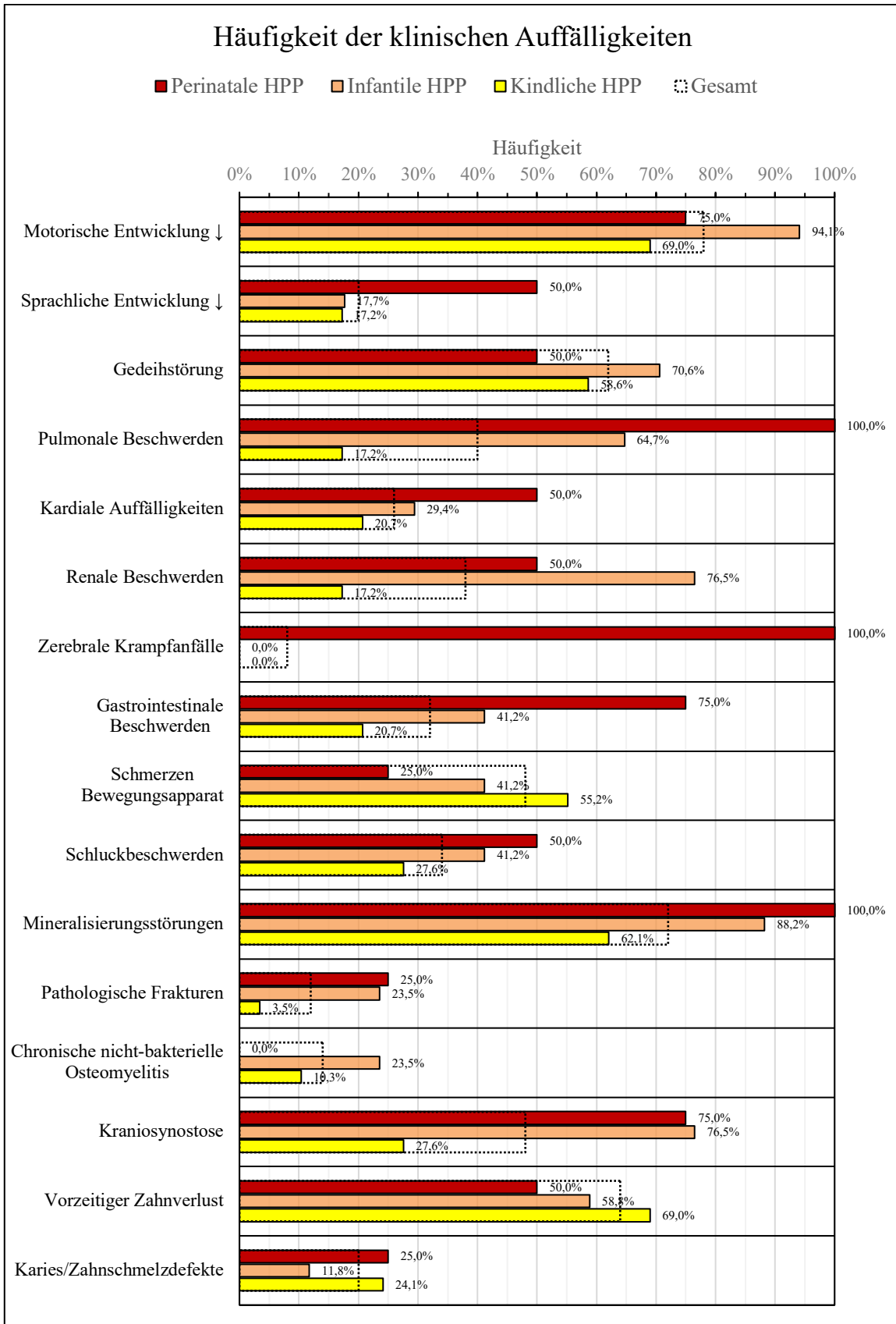


Abbildung 10: Häufigkeiten der klinischen Auffälligkeiten für die HPP-Subtypen

5.4 Laborchemische Auffälligkeiten

In den meisten Fällen wurden die für die Erkrankung bedeutsamen Laborparameter (AP, Kalzium, Phosphat, 25-OH-Vit.-D, PTH, PLP) im Verlauf der klinischen Betreuung mindestens einmalig bestimmt und entsprechend dokumentiert. Diese Werte sind in Tab. 7 mit Median, Minimum und Maximum des jeweiligen Laborparameters für die einzelnen HPP-Subtypen sowie für das gesamte Kollektiv aufgeführt. Abb. 11 veranschaulicht diese zusätzlich anhand einer Boxplot-Darstellung.

Bei allen HPP-Subtypen zeigt sich eine reduzierte Aktivität der AP, wobei ein eindeutiger Norm- oder Referenzwert aufgrund der altersabhängigen Variabilität nicht festgelegt werden kann. Es ist jedoch deutlich zu erkennen, dass beim perinatalen und damit klinisch am schwersten betroffenen Subtyp kaum noch Restaktivität der AP ($AP_{\text{median}} = 0,5 \text{ U/l}$) nachzuweisen ist. Kalzium ist mit einem Median von $2,82 \text{ mmol/l}$ (Norm $2,0\text{-}2,7 \text{ mmol/l}$) ausschließlich beim perinatalen Subtyp erhöht, P ist bei allen Subtypen hochnormal. 25-OH-Vit.-D ist formal nur beim kindlichen Subtyp ($25\text{-OH-Vitamin-D}_{\text{median}} = 23,6 \mu\text{g/l}$, Normbereich $30\text{-}70 \mu\text{g/l}$), mit $26,1 \mu\text{g/l}$ jedoch auch für die gesamte Kohorte erniedrigt. PTH ist mit einem Median von $12,3 \text{ ng/l}$ (Normbereich $12\text{-}65 \text{ ng/l}$) für alle Subtypen im unteren Normbereich, jedoch mit $5,3 \text{ ng/l}$ formal nur beim infantilen Subtyp unter dem Normwert. Bei allen Patienten mit perinatalem Subtyp wurde aufgrund zerebraler Krampfanfälle Vit.-B₆ substituiert, was die gemessenen PLP-Werte verfälscht und für die Auswertung unbrauchbar macht. Bei den übrigen Subtypen liegen die gemessenen PLP mit einem Median von $142,5 \text{ ng/ml}$ deutlich über dem physiologischen Grenzbereich (Normbereich $7\text{-}30 \text{ ng/ml}$).

Es ist dem retrospektiven Charakter dieser Arbeit geschuldet, dass die Blutentnahme nicht zu einem für alle Patienten standardisierten Zeitpunkt durchgeführt werden konnte. Es wurde selbstverständlich darauf geachtet, dass die Werte im Falle von eventuell durchgeführten Substitutionstherapien (z.B. Vit.-D-Präparate, Asfotase alfa oder Phosphatbinder) vor Beginn der jeweiligen Therapie bestimmt wurden.

	Perinatale HPP			Infantile HPP			Kindliche HPP			Gesamt		
	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max	Median	Min	Max
AP (in U/l) Norm: siehe unten	0,5 (n=4)	0	18	30 (n=17)	20	77	45 (n=29)	19	139	31,5 (n=50)	0	139
Kalzium (in mmol/l) Norm: 2,0-2,7	2,82 (n=4)	2,5	3,6	2,5 (n=17)	2,25	3,72	2,48 (n=28)	2,2	2,8	2,5 (n=49)	2,2	3,72
Phosphat (in mmol/l) Norm: 0,97-2,2	1,91 (n=4)	1,09	2,52	2,02 (n=17)	1,26	2,36	2,03 (n=28)	1,25	2,64	2,02 (n=49)	1,09	2,64
25-OH-Vit.-D (in µg/l) Norm: 30-70	33,8 (n=3)	12,6	39	30,8 (n=15)	8,3	50,7	23,6 (n=21)	13,8	53	26,1 (n=39)	8,3	53
PTH (in ng/l) Norm: 12-65	21,4 (n=3)	7	175	5,3 (n=17)	2	33,6	13,95 (n=24)	3	49	12,3 (n=44)	2	175
PLP (in ng/ml) Norm: 5-30	*Vit.-B ₆ -Therapie			150 (n=11)	62	774	120 (n=19)	30	446	142,5 (n=30)	30	774

Tabelle 7: *Mediane Laborwerte in unserem Patientenkollektiv*

AP=Alkalische Phosphatase, PTH=Parathormon, PLP=Pyridoxalphosphat

[Normwerte der AP (nach Beck C. et al. [51]):

Säuglinge = 110 - 590 IU/l; Kleinkinder = 110 - 550 IU/l; Schulkinder = 130 - 700 IU/l; Frauen = 55 - 147 IU/l; Männer = 62 - 176 IU/l]

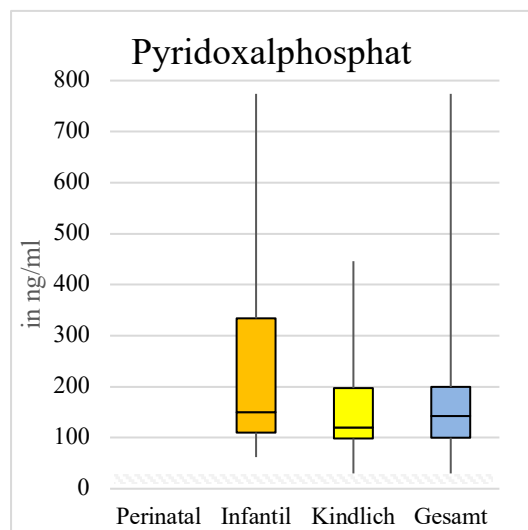
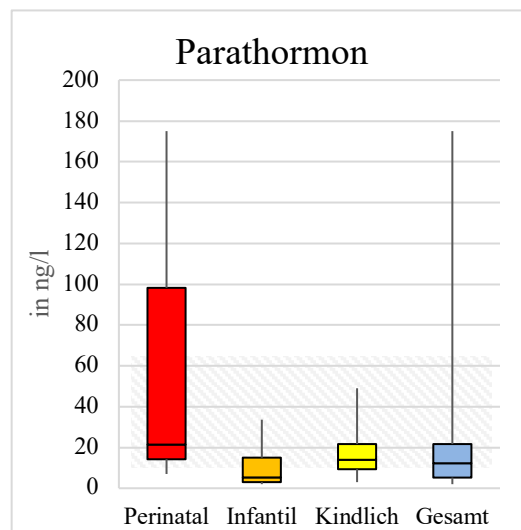
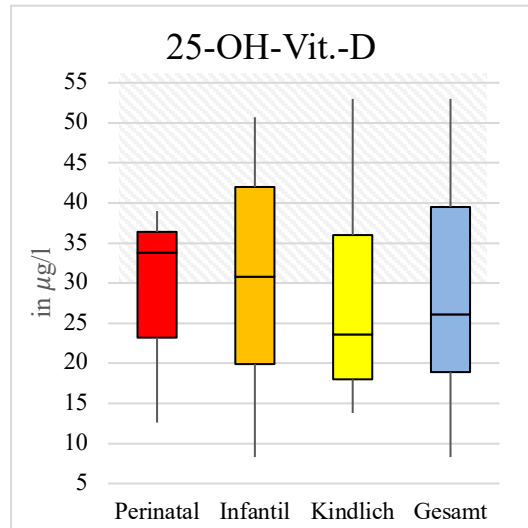
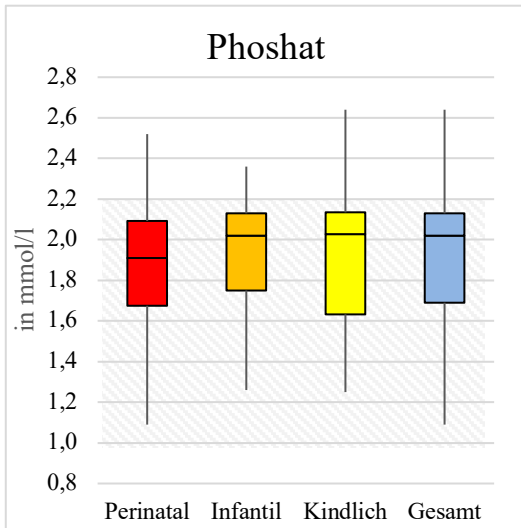
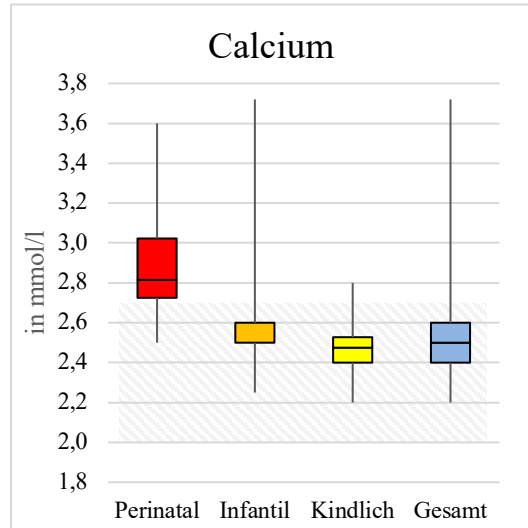
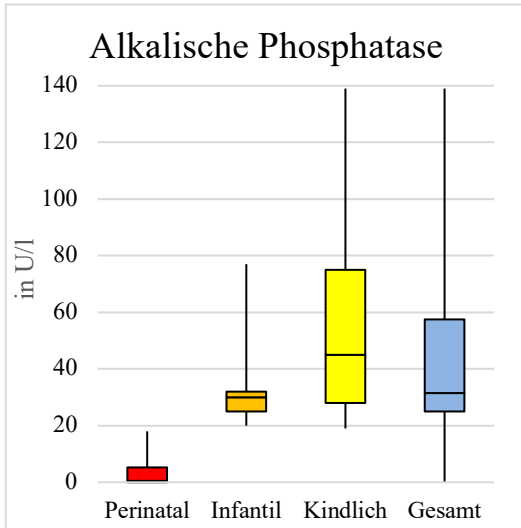


Abbildung 11: Mediane Laborwerte in unserem Patientenkollektiv (Boxplot-Darstellung)

5.5 Genetik

In 48/50 Fällen wurde die Diagnose der HPP durch Nachweis von Mutationen ALPL-Gens genetisch gesichert und in den Patientenakten nachvollziehbar dokumentiert.

Die nachfolgende Statistik basiert daher auf einer Gesamtzahl von 48 Patienten.

5.5.1 Genotyp der Patienten

Das Kollektiv besteht aus 35/48 (72,9%) Patienten mit compound-heterozygotem, 11/48 (22,9%) Patienten mit heterozygotem und 2/48 (4,2%) Patienten mit homozygotem Genstatus des ALPL-Gens. Die Patienten mit homozygotem Genstatus stammen beide aus Familien mit anamnestisch bekannter Konsanguinität. Tab. 8 zeigt die Häufigkeiten der einzelnen Subtypen in Bezug auf den jeweiligen Genotyp.

	Homozygot n (%)	Compound-heterozygot n (%)	Heterozygot n (%)	Gesamt
Perinataler Subtyp	1 (25%)	3 (75%)	0	4
Infantiler Subtyp	1 (5,9%)	15 (88,2%)	1 (5,9%)	17
Kindlicher Subtyp	0	17 (63,0%)	10 (37,0%)	27
Gesamt	2	35	11	48

Tab. 8: Häufigkeit der HPP-Subtypen in Bezug auf den Genstatus

5.5.2 Mutationen

Insgesamt lassen sich also in unserem Patientenkollektiv 85 Mutationen des ALPL-Gens nachweisen. Da einige Mutationen gleich mehrmals auftreten, finden sich insgesamt 40 unterschiedliche Mutationen.

Eine Auflistung aller Mutationen dieser Kohorte zeigt Tab. 9.

	Mutation 1	Exon	Art	vorbeschrieben als		Mutation 2	Exon	Art	vorbeschrieben als		
Perinatal	p.Q32X, p.Gln32X	3	nonsense	ja	perinatal	Intron 6/7, c.648+1G->A	/	substitution	ja	perinatal	
	p.R223W, p.Arg223Trp	7	missense	ja	perinatal	p.R391C, p.Arg391Cys	10	missense	ja	kindlich	
	p.R223W, p.Arg223Trp	7	missense	ja	perinatal	p.Y441Term, p.Tyr441Term	12	nonsense	ja	perinatal	
	p.A443G, p.Ala443Gly	12	missense	nein	/	p.A443G, p.Ala443Gly	12	missense	nein	/	
Infantil	p.A33V, p.Ala33Val	3	missense	ja	kindlich	p.A40V, p.Ala40Val	3	missense	ja	perinatal	
	p.R71C, p.Arg71Cys	4	missense	ja	infantil	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	
	p.R71C, p.Arg71Cys	4	missense	ja	infantil	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	
	p.R71H, p.Arg71His	4	missense	ja	perinatal	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	
	p.R71H, p.Arg71His	4	missense	ja	perinatal	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	
	p.T100M, p.Thr100Met	5	missense	ja	infantil	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	
	p.T141I, p.Thr141Ile	5	missense	ja	infantil	p.R428P, p.Arg428Pro	11	missense	ja	perinatal	
	p.A176T, p.Ala176Thr	6	missense	ja	kindlich	p.G221R, p.Gly221Arg	7	missense	ja	perinatal	
	p.A176T, p.Ala176Thr	6	missense	ja	kindlich	c.1171delC, p.Arg391ValfsX12	10	ins/del	ja	infantil	
	p.A176T, p.Ala176Thr	6	missense	ja	kindlich	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
	p.A177T, p.Ala177Thr	6	missense	ja	adult	p.R223W, p.Arg223Trp	7	missense	ja	perinatal	
	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil	p.G456R, p.Gly456Arg	12	missense	ja	infantil	
	p.R223W, p.Arg223Trp	7	missense	ja	perinatal	p.G249V, p.Gly249Val	7	missense	ja	perinatal	
	IVS 7, c.793-14_33	/	small del	ja	infantil	IVS 7, c.793-14_33	/	small del	ja	/	
	p.R391H, p.Arg391His	10	missense	ja	kindlich	/	/	/	/	/	
	Kindlich	p.R52S, p.Arg52Ser	2	missense	nein	/	/	/	/	/	/
		p.T68M, p.Thre68Met	4	missense	ja	kindlich	p.A177T, p.Ala177Thr	6	missense	ja	adult
		p.T68M, p.Thre68Met	4	missense	ja	kindlich	p.E191K, p.Glu191Lys	6	missense	ja	infantil
		p.R71S, p.Arg71Ser	4	missense	ja	kindlich	/	/	/	/	/
		p.A111T, p.Ala111Thr	5	missense	ja	odonto	/	/	/	/	/
		p.Y117C, p.Tyr117Cys	5	missense	ja	kindlich	p.Y236Stop, p.Tyr236Stop	7	nonsense	nein	/
		p.R136H, p.Arg136His	5	missense	ja	infantil	IVS 5, c.472+8delG	/	small del	nein	/
		p.R136H, p.Arg136His	5	missense	ja	infantil	IVS 5, c.472+8delG	/	small del	nein	/
		p.A176T, p.Ala176Thr	6	missense	ja	kindlich	p.R428X, p.Arg428X	11	missense	ja	perinatal
p.A177T, p.Ala177Thr		6	missense	ja	adult	p.L275P, p.Leu275Pro	8	missense	ja	kindlich	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.F328del, p.Phe328del	9	small del	ja	infantil	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.G334D, p.Gly334Asp	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.A377V, p.Ala377Val	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	p.A377V, p.Ala377Val	10	missense	ja	perinatal	
p.E191K, p.Glu191Lys		6	missense	ja	infantil	/	/	/	/	/	
IVS 7, 793-19A>G		/	substitution	nein	/	p.P292T, p.Pro292Thr	9	missense	ja	infantil	
IVS 7, 793-19A>G		/	substitution	nein	/	p.P292T, p.Pro292Thr	9	missense	ja	infantil	
p.R272C, p.Arg272Cys		8	missense	ja	perinatal	/	/	/	/	/	
p.M295T, p.Met295Thr		9	missense	ja	perinatal	/	/	/	/	/	
p.R391C, p.Arg391Cys		10	missense	ja	kindlich	/	/	/	/	/	
p.R391C, p.Arg391Cys		10	missense	ja	kindlich	/	/	/	/	/	
p.R391C, p.Arg391Cys		10	missense	ja	kindlich	/	/	/	/	/	
p.N417S, p.Asn417Ser	11	missense	ja	perinatal	/	/	/	/	/		

Tabelle 9: ALPL-Mutationen unseres Patientenkollektivs (in Anlehnung an E. Mornet [19])

5.5.2.1 Verteilung der Mutationen auf Exons/Introns

78 der 85 nachgewiesenen Mutationen (91,7%) befinden sich auf den zwölf Exon-Abschnitten des ALPL-Gens. Die meisten Mutationen sind auf dem Exon 6 (25/78; 32,1%) und auf dem Exon 10 (16/78; 20,5%) lokalisiert. Sieben Mutationen (8,2%) sind den Intron-Abschnitten des ALPL-Gens zuzuordnen. Die Verteilung der Mutationen auf die Exons ist Abb. 12 zu entnehmen.

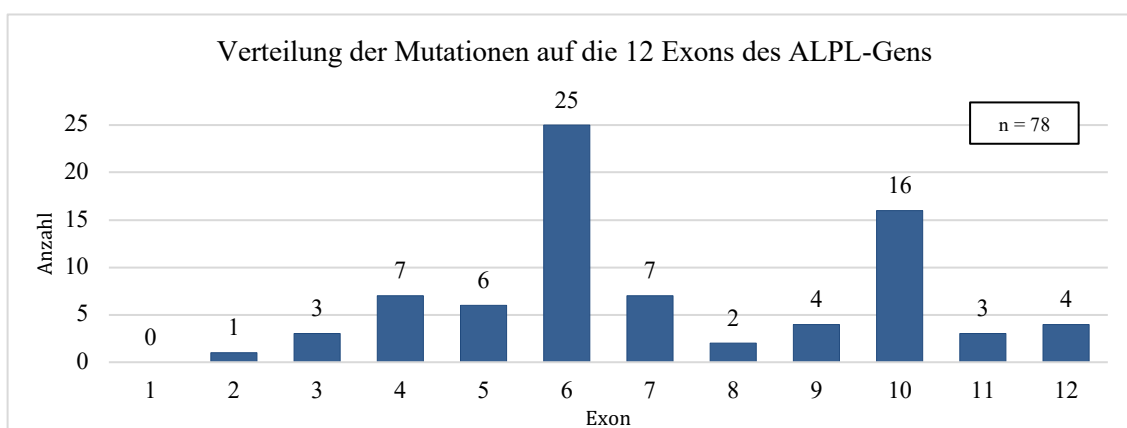


Abbildung 12: Verteilung der 78 in unserer Patientenkohorte gefundenen Exon-Mutationen auf die 12 Exons des ALPL-Gens

5.5.2.2 Einteilung der Mutationen nach ihrer Mutationsart

Die Mutationen lassen sich anhand der Mutationsart unterscheiden (siehe Kap. 2.2.2). In unserem Patientenkollektiv sind 77 der 85 (90,6%) Mutationen sog. missense-Mutationen, 6/85 (7,0%) kleine del/ins und 2/85 (2,4%) stop-Mutationen (siehe Tab. 10 und Abb. 13).

Art der Mutation	Häufigkeit
missense	77/85 (90,6%)
kleine del/ins	6/85 (7,0%)
stop	2/85 (2,4%)

Tabelle 10: Häufigkeiten der Mutationsarten in unserem Patientenkollektiv

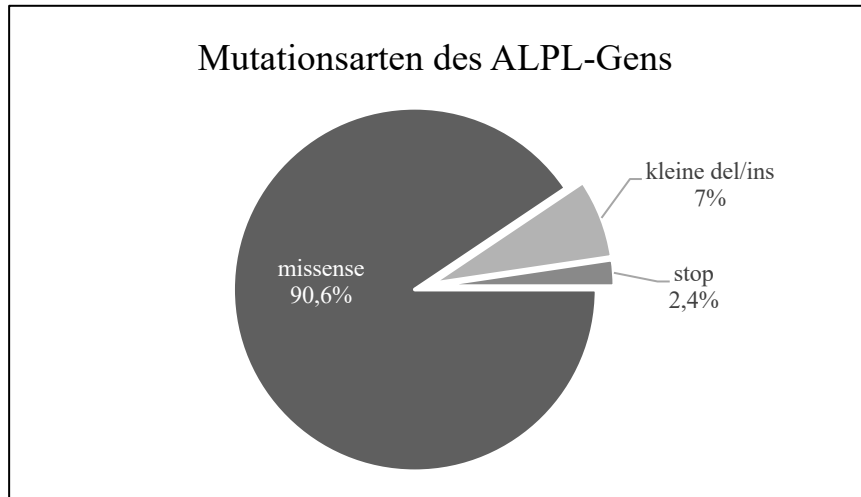


Abbildung 13: Häufigkeit der verschiedenen Mutationsarten in unserem Kollektiv

5.5.2.3 Bislang nicht veröffentlichte Mutationen

In der von E. Mornet geführten Datenbank [19], in welcher alle bislang dokumentierten und publizierten Mutationen des ALPL-Gens aufgeführt sind, finden sich 35 der insgesamt 40 in unserem Patientenkollektiv gefundenen Mutationen. Fünf Mutationen sind in der Datenbank bislang nicht aufgeführt (siehe Tab. 11).

Exon/Intron	Mutation	Genotyp des Patienten	Phänotyp des Patienten ¹
Exon 2	p.Arg52Ser	p.Arg52Ser/- (heterozygot)	Kindliche Form
Intron 5	c.472+8delG	c.472+8delG/p.Arg136His (compound heterozygot)	Kindliche Form
Exon 7	p.Tyr236Stop	p.Tyr236Stop/p.Tyr117Cys (compound heterozygot)	Kindliche Form
Intron 7	c.783-19A>G	c.783-19A>G/p.Pro292Thr (compound heterozygot)	Kindliche Form
Exon 12	p.Ala443Gly	p.Ala443Gly/p.Ala443Gly (homozygot)	Perinatale Form

Tabelle 11: Bislang nicht publizierte Genmutationen unserem Patientenkollektiv (ALPL-Mutation-Datenbank von E. Mornet, Stand August 2019 [19])

¹Phänotyp in unserem Patientenkollektiv

Einige Mutationen treten in unserer Patientenkohorte gehäuft auf. Diese Mutationen sind mit der entsprechenden Anzahl ihres Vorkommens in Tab. 12 aufgeführt. Die häufigste Mutation ist p.Glu191Lys (p.E191K). Diese konnte bei 18 der 48 (37,5%) getesteten Patienten nachgewiesen werden.

Mutation	Anzahl der Patienten	Exon	Phänotyp ¹
p.Glu191Lys	18	6	Infantile Form
p.Gly334Asp	8	10	Perinatale Form
p.Ala176Thr	4	6	Kindliche Form
p.Arg223Trp	4	7	Perinatale Form
p.Arg391Cys	4	10	Kindliche Form
p.Ala177Thr	3	6	Adulte Form
p.Ala377Val	2	10	Perinatale Form
p.Arg71Cys	2	4	Infantile Form
p.Arg71His	2	4	Perinatale Form
p.Thr68Met	2	4	Kindliche Form
p.Pro292Thr	2	9	Infantile Form
p.Arg136His	2	5	Infantile Form

*Tab. 12: Häufigkeiten der in unserer Patientenkohorte vorkommenden Mutationen
¹Phänotyp gemäß der ALPL-Genmutation-Datenbank von Mornet [19]*

Insgesamt weisen 7 Patientinnen und Patienten (2 infantiler Subtyp, 5 kindlicher Subtyp), davon 3 Geschwisterpaare die gleiche Kombination aus den zwei häufigsten Mutationen p.Glu191Lys und p.Gly334Asp auf. Tab. 13 fasst deren klinische Symptomatik zusammen.

Klinische Manifestation	Genotyp p.Glu191Lys/p.Gly334Asp n=7
Systemische Manifestationen	
Motorische Entwicklung ↓	7/7 (100 %)
Sprachliche Entwicklung ↓	1/7 (14,3 %)
Gedeihstörung	4/7 (57,1 %)
Pulmonale Beschwerden	2/7 (28,6 %)
Kardiale Auffälligkeiten	2/7 (28,6 %)
Renale Beschwerden	4/7 (57,1 %)
Zerebrale Krampfanfälle	0/7 (0 %)
Gastrointestinale Beschwerden	3/7 (42,9 %)
Schmerzen Bewegungsapparat	4/7 (57,1 %)
Schluckbeschwerden	2/7 (28,6 %)
Knochenmanifestationen	
Mineralisierungsstörungen	5/7 (71,4 %)
Pathologische Frakturen	1/7 (14,3 %)
Chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis	0/7 (0 %)
Kraniosynostose	4/7 (57,1 %)
Zahnmanifestationen	
Vorzeitiger Zahnverlust	5/7 (71,4 %)
Karies/Zahnschmelzdefekte	2/7 (28,6 %)

Tabelle 13: Symptomatik der Patienten mit dem Genotyp p.Glu191Lys/p.Gly334Asp

5.6 Therapie

Die bislang einzige kausale Therapiemöglichkeit ist die Enzymersatztherapie mit Asfotase alfa. Ansonsten ist lediglich eine symptomatische Therapie der im Rahmen der HPP auftretenden Beschwerden möglich, wie bereits in Kap. 2.6 aufgeführt. Die Therapie richtet sich nach der Schwere und Art der Symptomatik und beinhaltet sowohl medikamentöse als auch physiotherapeutische und operative Maßnahmen.

5.6.1 Multimodale Betreuung

24 von 50 (48%) Patienten wurden aufgrund einer chronischen Schmerzsymptomatik mit NSAIDs behandelt. Dies erfolgte zumeist mit dem bereits in Kap. 2.6.1 beschriebenen und etablierten Schema einer 8-wöchigen Therapie mit NSAIDs, gefolgt von einer 4-wöchigen Behandlungspause. Ein bestehender Vit.-D-Mangel wurde in 27 von 50 (54%) Fällen mit einer gering-dosierten Vit.-D-Substitution ausgeglichen. Eine Behandlung der Hyperphosphatämie durch die Gabe von Phosphatbindern erfolgte bei 8 Patienten (16%). Die 4 Patienten mit perinatalem HPP-Subtyp wurden aufgrund ihrer zerebralen Krampfanfälle mit Vit.-B₆ behandelt.

Bei 12 der insgesamt 24 Patienten mit Kraniosynostosen war aufgrund einer damit einhergehenden Erhöhung des intrakraniellen Drucks eine neurochirurgische Intervention mit operativem Remodelling der Schädelkalotte notwendig. Eine physio- und ergotherapeutische sowie logopädische Betreuung wurde bei nahezu allen Patienten aus medizinischer Sicht empfohlen, jedoch kann anhand der Unterlagen keine eindeutige Aussage bezüglich der tatsächlichen Durchführung getroffen werden.

Bei den kardial und pulmonal sehr schwer betroffenen Patienten war eine intensivmedizinische Therapie nötig. So waren sieben Patienten (3 perinatal, 3 infantil, 1 kindlich) im Verlauf beatmungs- und 3 Patienten (alle vom perinatalen Subtyp) reanimationspflichtig.

5.6.2 Enzyersatztherapie

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung erhielten 20 der 50 Patienten (4/4 (100%) vom perinatalen Subtyp, 11/17 (64,7%) vom infantilen Subtyp und 3/29 (10,3%) vom kindlichen Subtyp) eine Enzyersatztherapie mit Strensiq® (Wirkstoff: Asfotase alfa). 14 Patienten wurden noch vor der offiziellen Zulassung des Wirkstoffs im Rahmen der Phase-II-Studie ENB-0040 am Standort Würzburg mit Strensiq® behandelt.

6. Diskussion

6.1 Methodik und Patientenkollektiv

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit wurden die demografischen und klinischen Daten der in den letzten 25 Jahren an der Universitätskinderklinik Würzburg betreuten Kindern mit der Diagnose HPP gesammelt und ausgewertet. Dank guter Dokumentation, sowohl in digitaler als auch in gedruckter und handschriftlicher Form, fanden sich suffiziente Daten von insgesamt 50 pädiatrischen HPP-Patienten. Dass diese Dokumentationen zum Teil auch Lücken aufwiesen ist dem retrospektiven Charakter dieser Arbeit geschuldet.

Die HPP ist eine sehr seltene Erkrankung und es gibt eine mutmaßlich sehr hohe Dunkelziffer an nicht diagnostizierten Fällen; insbesondere dann, wenn die Patienten klinisch lediglich milde betroffen sind. Dies erschwert die Bestimmung von Prävalenz und Inzidenz der Erkrankung. Basierend auf der Anzahl von monozentrisch durchgeführten molekulargenetischen Testungen schätzten Mornet et al. 2011 die Prävalenz schwerer HPP-Fälle (perinataler und infantiler Subtyp) auf etwa 1 / 300 000 Geburten und die Prävalenz milder Fälle auf 1 / 6370 in Westeuropa [18, 79]. Dass milde Formen der HPP häufiger auftreten bestätigt sich auch in dieser Arbeit: 29 Patienten (58%) hatten einen kindlichen und damit eher milden Phänotyp im Vergleich zu 17 Patienten (34%) mit infantilem und 4 Patienten (8%) mit perinatalem Subtyp, die vergleichsweise schwerwiegendere Symptome aufwiesen. Schwer betroffene Patienten, also Patienten mit perinatalem oder infantilem Subtyp machen dennoch einen recht großen Teil unseres Patientenkollektivs aus, was dadurch bedingt ist, dass diese Patienten im Rahmen der bereits mehrfach erwähnten Phase-II-Studie zur Enzyersatztherapie mit Asfotase alfa in Würzburg betreut wurden.

Im Jahr 2015 veröffentlichten Whyte et al. eine Arbeit über einen Zeitraum von 25 Jahren monozentrisch am Shriners Hospital for Children in St. Louis, Missouri gesammelten klinischen Daten von insgesamt 173 an HPP erkrankten Kindern, was die bislang größte zusammenhängend untersuchte Patientenkohorte darstellt. Mit unserem Kollektiv von 50 pädiatrischen Patienten haben wir in Anbetracht der Seltenheit der Erkrankung und der lediglich monozentrischen Datenerhebung eine sehr große und repräsentative

Patientenkohorte, zumal aus Europa bislang keine nosologischen Studien entsprechend großer Patientengruppen veröffentlicht wurden.

Es ist ein bekanntes Problem, dass Studien über chronische pädiatrische Erkrankungen, welche mit Kleinwuchs und motorischer Entwicklungsverzögerung einhergehen, oftmals ein Ungleichgewicht zugunsten des männlichen Geschlechts zeigen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich Eltern häufig mehr um das Wachstum ihrer Söhne als um das ihrer Töchter sorgen, was auch in der bereits erwähnten Arbeit von Whyte et al. kritisch angemerkt wird [54, 80]. In unserem Patientenkollektiv hat dies jedoch bei 26 männlichen und 24 weiblichen Patienten und einem somit recht ausgeglichenen Verhältnis beider Geschlechter keinen relevanten Einfluss.

Der größte Teil der Patienten (35/50; 70%) wurde im Jahr 2000 oder später geboren. Hier spielen sicherlich mehrere Faktoren eine wichtige Rolle, wie Fortschritte in der Diagnostik, z.B. im Hinblick auf die molekulargenetische Sicherung der Diagnose, oder auch die Gründung eines deutschlandweiten HPP-Netzwerks mit Zentrum in Würzburg, wodurch viele betroffene Kinder aus ganz Deutschland in Würzburg angebunden sind.

6.2 Diagnose der HPP

Es ist eine besondere diagnostische Herausforderung, die HPP als zugrundeliegende Ursache der klinischen Symptome auszumachen. In Anbetracht der Möglichkeiten einer Enzyersatztherapie mit Asfotase alfa oder auch einer symptomatischen, entzündungshemmenden Schmerztherapie mit NSAIDs kommt einer raschen Diagnose und einem damit möglichst frühzeitigen Therapiebeginn eine besondere Bedeutung zu, um die Letalität schwer betroffener Patienten senken oder die physische Aktivität und damit letztlich die Lebensqualität der betroffenen Kinder signifikant verbessern zu können [31, 59, 81, 82]. Wir untersuchten in unserer Patientenkohorte die Zeitspanne zwischen dem Auftreten der ersten HPP-Symptome und der Diagnosestellung. Für das gesamte Kollektiv dauerte diese im Median 3,5 Monate. Betrachtet man die einzelnen Subtypen für sich, dann fällt auf, dass bei allen vier Patienten mit perinatalem Subtyp aufgrund der lebensbedrohlichen Symptomatik unmittelbar nach Geburt die entsprechende Diagnostik eingeleitet und die korrekte Diagnose HPP erfreulicherweise innerhalb des ersten Lebensmonats gestellt werden konnte. Gerade beim perinatalen Subtyp ist jedoch eine

unmittelbare Diagnose der HPP auch dringend notwendig, da dieser Subtyp unbehandelt bereits in den ersten Lebenstagen eine sehr hohe Letalität aufweist. Verdeutlicht wird dies durch die Ergebnisse einer im Jahr 2013 veröffentlichten retrospektiven Studie von 15 Patienten mit perinataler HPP von Leung et al. Hier verstarben 9 der 15 Kinder bereits am ersten Tag nach Geburt und keines der Kinder überlebte das erste Lebensjahr [49]. Eine andere Publikation von Whyte et al. gibt das mediane Überleben unbehandelter Patienten des perinatalen und infantilen Subtyps mit 8,9 Monaten an [81].

Je milder die klinische Ausprägung, desto schwieriger ist es aufgrund der sehr variablen und unspezifischen Symptomatik und der Vielzahl an oftmals geläufigeren Differenzialdiagnosen, die HPP als Ursache der Beschwerden zu identifizieren (in unserer Kohorte mit Ausnahme eines Patienten mit kindlichem Subtyp und familiär bereits bekannter und somit unmittelbar diagnostizierter HPP). Dies spiegelt sich in der Zeitspanne von Symptombeginn bis Diagnosestellung wieder: beim infantilen Subtyp dauerte es im Median 12 Monate und beim kindlichen Subtyp im Median gar 22,5 Monate bis die HPP als Ursache der Symptome diagnostiziert werden konnte. Welche Bedeutung eine Therapieverzögerung von 12 Monaten für einen einzelnen schwer betroffenen Patienten haben kann, verdeutlichen erste Studien über die Wirksamkeit der Enzyersatztherapie bei perinatal/infantiler HPP. Hier konnten bereits nach 6 Monaten eine signifikante Verbesserung der Knochenmineralisierung sowie des Körperwachstums, der Muskelstärke, der motorischen Funktion sowie der Beweglichkeit und damit einhergehend auch der Lebensqualität nachgewiesen werden [82].

Bei einem Patienten mit kindlicher HPP dauerte es in unserem Kollektiv gar 8,5 Jahre bis die Beschwerden (motorische Entwicklungsverzögerung, frühzeitiger Zahnausfall und fraglich pathologische Frakturen) im Alter von knapp 11 Jahren der Grunderkrankung HPP zugeordnet werden konnten. Aus diesen Ergebnissen lassen sich auch Rückschlüsse auf die in dieser Arbeit bisher noch nicht behandelte adulte Form der HPP ziehen. Diese zeichnet sich durch eine nochmals mildere Symptomatik als die pädiatrische HPP aus. Oft sind muskuloskelettale Schmerzen, Gelenkbeschwerden oder ungewöhnliche/pathologische Frakturen die einzigen Auffälligkeiten, sodass die Diagnose aufgrund einer Vielzahl an häufigeren Differentialdiagnosen, allen voran die Osteoporose, erst sehr spät gestellt wird. So gibt es z.B. einige publizierte Fälle, in denen die Diagnose HPP erst im weit fortgeschrittenen Lebensalter gestellt wurde [83, 84].

Der erste Schritt zur Diagnose HPP besteht zunächst darin, die präsentierten Symptome zu erkennen und entsprechen einzuordnen, um so weitere laborchemischen Untersuchungen zu initiieren. Das in unserem Kollektiv initial am häufigsten präsentierte Symptom (in 17/50 Patienten, 34%) war eine unklare Gedeihstörung – ein Symptom mit einer Vielzahl an möglichen Ursachen, viele davon weitaus häufiger als die HPP. Auch die anderen Symptome, mit denen die Patienten in unserem Kollektiv zum ersten Mal auffällig wurden, wie z.B. die ungewöhnliche Kopfform oder der frühzeitige Milchzahnverlust (trotz intakter Zahnwurzel), sind letztlich keine Leitsymptome, die die HPP als führende Differentialdiagnose in den Mittelpunkt stellen. Aus diesem Grund ist es verständlich, dass zunächst oftmals andere Differentialdiagnosen in den Vordergrund rücken und abgeklärt werden. In der hier vorliegenden Arbeit waren die häufigste initialen Verdachtsdiagnosen in knapp der Hälfte (10/21; 47,6%) der dokumentierten Fälle aufgrund des sehr ähnlichen klinischen Erscheinungsbildes Formen der Rachitis.

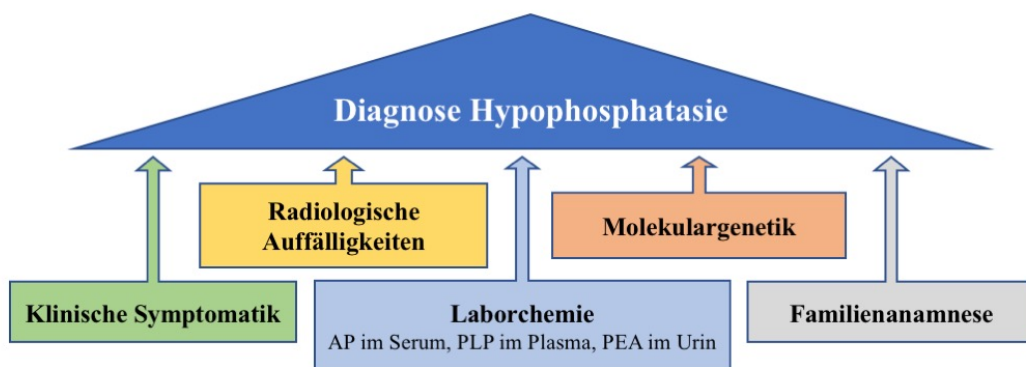


Abbildung 14: Hilfreiche diagnostische Werkzeuge zur Diagnosestellung der HPP

Die zentrale Rolle in der laborchemischen Diagnostik der HPP spielt die Bestimmung der AP-Aktivität im Serum. Diese kann sehr schnell, kostengünstig und überall bestimmt werden. Bei einer Unterschreitung der altersabhängigen Grenzwerte sollte an die HPP als mögliche Differentialdiagnose gedacht werden und zusätzliche diagnostische Werkzeuge zur weiteren Abklärung hinzugezogen werden. Hier gilt es zu beachten, dass die AP-Aktivität häufig auch nur vorübergehend erniedrigt sein kann, da die AP physiologischen Schwankungen unterliegt und neben der HPP viele andere Ursachen zu einer Reduktion der Aktivität führen können [85, 86]. Dementsprechend muss eine solche laborchemische

Auffälligkeit stets im klinischen Kontext betrachtet und eventuell verlaufskontrolliert werden.

Eine erniedrigte AP-Aktivität im Serum hat in unserem Kollektiv bei 96% (48/50) und eine zur HPP passende klinische Symptomatik bei 88% der Patienten zur HPP-Diagnosestellung beigetragen. Nur in Ausnahmefällen konnte aufgrund einer positiven Familienanamnese bereits vor einer laborchemischen Untersuchung oder vor dem Beginn klinischer Auffälligkeiten die Diagnose HPP gestellt werden. Diese Zahlen verdeutlichen, dass der größte Teil der HPP-Diagnosen in unserem Kollektiv einem sich ähnelnden, diagnostischen Algorithmus folgt. Es wird offensichtlich, wo sich sog. „Pitfalls“ als Ursachen für eine verzögerte Diagnosestellung verstecken.

Neben der diagnostischen Herausforderung, die klinische Symptomatik entsprechend einzuordnen ist ein weiteres wichtiges Problem, dass viele Laboreinrichtungen keinen unteren Grenzwert der AP definieren und anfordernde Ärzte dementsprechend nicht erst auf pathologisch niedrige Werte der AP aufmerksam gemacht werden [87].

Ist die Aktivität der AP nämlich erniedrigt und wird entsprechend erkannt, so gilt es die Diagnostik zu erweitern, um die HPP als Ursache zu sichern, sowohl laborchemisch oder auch durch weitere klinische Untersuchungen durch andere Fachrichtungen.

Zur endgültigen Diagnosesicherung sollte eine molekulargenetische Bestimmung des Genotyps erfolgen, um so Genmutationen im ALPL-Gen nachweisen zu können. Hier ist jedoch zu betonen, dass die Diagnose HPP auch ohne diesen vergleichsweise aufwändigen und kostenintensiven Schritt, also basierend auf klinischen, laborchemischen und radiologischen Untersuchungen, gestellt werden kann [54].

In unserem Kollektiv trug lediglich in 18% (9/50) der Fälle eine genetische Untersuchung zur direkten Diagnosestellung bei; in einem Fall wurden Mutationen des ALPL-Gens sogar nur nebenbefundlich bei der genetischen Abklärung einer Hypo-/Achondroplasie entdeckt und nachgewiesen. Dass der Genotyp dennoch bei einem Großteil der Patienten bestimmt wurde, hatte in erster Linie akademische Gründe. Die laborchemischen Parameter korrelieren meist mit der Schwere der klinischen Ausprägung. Dieser Zusammenhang ist bereits in anderen Studien mehrmals beschrieben worden und bestätigt sich auch in unserem pädiatrischen Patientenkollektiv [48, 88]. Bei allen Patienten war die AP-Restaktivität im Serum erniedrigt, was die hohe Sensitivität dieser Untersuchung hervorhebt. Während beim perinatalen Subtyp kaum noch Restaktivität nachzuweisen ist ($AP_{\text{median}}=0,5$ U/l) sind die

Werte beim infantilen Subtyp deutlich vermindert und beim kindlichen Subtyp teils auch „nur“ an der unteren Grenze des Normbereichs angesiedelt. Die Werte unseres Kollektivs unterscheiden sich nicht wesentlich von den von Whyte et al. für den infantilen und kindlichen Subtyp veröffentlichten Werte, wobei bei Whyte et al. noch zwischen einem „mild childhood“- und „severe childhood“-Subtyp unterschieden wird [88].

Mit der Bestimmung des PLP im Plasma gibt es eine sehr gute Möglichkeit zur weiteren laborchemischen Sicherung der klinischen Verdachtsdiagnose. Auch in unserem Kollektiv war das PLP, sofern es bestimmt wurde, bei allen Patienten mindestens an der oberen Grenze des definierten Normbereichs von 5-30 ng/ml, was die hohe Sensitivität dieses Laborparameters hervorhebt. Auch hier lässt sich eine Korrelation mit der Schwere der klinischen Ausprägung erkennen.

Bei unserem Kollektiv zeigen sich wie auch bei Whyte et al. deutliche Überlappungen der laborchemischen Parameter, insbesondere auch beim infantilen und kindlichen Subtyp. Eine definitive Zuteilung der Patienten zu den einzelnen Subtypen ist somit anhand laborchemischer Untersuchungen nicht möglich, sondern wird durch die letztendliche klinische Symptomatik definiert.

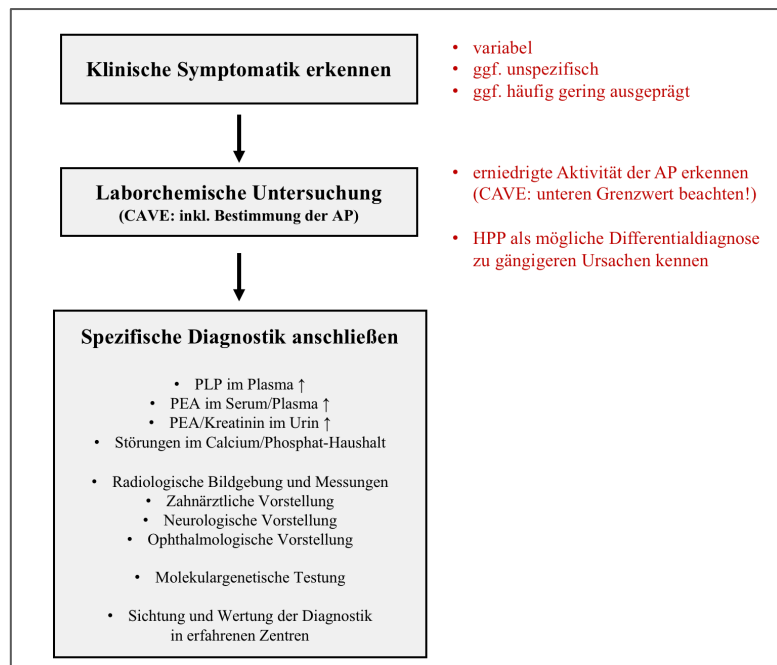


Abbildung 15: Diagnostischer Algorithmus der HPP mit den häufigsten „Pitfalls“

6.3 Klinische Symptomatik und Therapie

Als Systemerkrankung mit einer Vielzahl an möglichen Symptomen und Manifestationen ist die HPP mehr als nur eine Erkrankung des Knochenskeletts. Michael P. Whyte, einer der weltweit führenden Experten auf dem Gebiet der metabolischen Knochenerkrankungen, postuliert sogar, die HPP habe das breiteste klinische Spektrum aller Skeletterkrankungen [54, 89].

In unserem Kollektiv zeigen die Patienten des perinatalen Subtyps neben den skelettalen Manifestationen allesamt auch potenziell lebensbedrohliche Symptome. Hierzu zählen insbesondere die pulmonale Hypoplasie oder auch zerebrale Krampfanfälle, welche mit einer schlechten Prognose assoziiert sind [75]. Die perinatale Form der HPP zeichnet sich unbehandelt durch eine sehr hohe Letalität in den ersten Lebensstagen aus. Studien konnten bereits zeigen, dass die Therapie mit Asfotase alfa bei schweren Fällen der HPP einen positiven Einfluss auf das Überleben haben kann [31, 81]. Dies bestätigt sich auch in unserem Kollektiv: zum Zeitpunkt der Datenerhebung sind zwei der vier Patienten mit perinatalem Subtyp verstorben, in einem Fall noch bevor eine Therapie mit Asfotase alfa begonnen wurde. Bei zwei Patienten (Geburtsjahr 2011 und 2014) konnte durch das Ergreifen intensivmedizinischer Maßnahmen und den frühzeitigen Beginn einer Enzyersatztherapie mit Asfotase alfa ein letaler Ausgang der Erkrankung bis zum aktuellen Zeitpunkt verhindert werden.

Der infantile Subtyp zeichnet sich in unserem Kollektiv durch das Auftreten von motorischer Entwicklungsverzögerung (94%, 16/17) sowie Störungen der Knochenmineralisierung (88%, 15/17) aus. Zudem ist bemerkenswert, dass 13 der 17 Patienten (76,5%) vom infantilen Subtyp und damit auffallend häufiger als Patienten vom kindlichen Subtyp einen vorzeitigen Verschluss der Schädelnähte entwickelten. Diese Ergebnisse sind jedoch mitunter dadurch zu erklären, dass aufgrund der unbehandelt sehr hohen Letalität bislang keine klinische Langzeitdaten für Patienten des perinatalen Subtyps vorliegen. Daher ist grundsätzlich davon auszugehen, dass die Prävalenz der Kraniosynostosen mit der Schwere der Erkrankung korreliert.

Beim kindlichen Subtyp stehen mit chronischen Schmerzen des Bewegungsapparats (55,2%) und vorzeitigem Milchzahnverlust (69,0%) weniger schwere, akute und z.T. auch sehr unspezifische Symptome im Vordergrund. Die verschiedenen Symptome treten bei diesem Subtyp insgesamt seltener und unregelmäßiger auf, was das sehr breite klinische Spektrum der HPP unterstreicht und die diagnostische Herausforderung, gerade auch für klinisch milde Formen wie den kindlichen Subtyp, nochmals hervorhebt.

6.4 Genetik

Die Zusammenhänge zwischen dem Genotyp und der phänotypischen Ausprägung sind sehr komplex und noch immer nicht endgültig verstanden. Zwar können die einzelnen Mutationen *in vitro* bezüglich der resultierenden AP-Restaktivität untersucht und „moderate“ von „schweren“ Mutationen unterschieden werden, so zeigen klinische Beobachtungen dennoch eine große Variabilität des Phänotyps auch bei identischem Genotyp [48, 90]. Auch in unserem Kollektiv wird dies z.B. dadurch deutlich, dass sieben Patienten denselben Genotyp aufweisen, sich in ihrer klinischen Symptomatik (zwei Patienten mit infantilem und fünf Patienten mit kindlichem Subtyp, siehe Tab. 13) trotzdem deutlich unterscheiden.

Die sehr umfangreiche molekulargenetische Datenbank von E. Mornet zeigt, dass Patienten mit einer Kombination aus zwei Genmutationen, also mit compound-heterozygotem oder homozygotem Genotyp mit einer hohen Wahrscheinlichkeit klinisch schwerer betroffen sind als Patienten mit heterozygotem Genstatus [79]. Unsere Ergebnisse stimmen mit diesen Angaben überein und bekräftigt diesen Zusammenhang. Auch bei Kenntnis des Genotyps ist jedoch eine sichere Aussage bezüglich des resultierenden Phänotyps nicht möglich. Dies spielt insbesondere bei der pränatalen Diagnostik oder bei der molekulargenetischen Untersuchung von Geschwistern betroffener Patienten eine wichtige Rolle und muss bei der genetischen Beratung der Eltern entsprechend kommuniziert werden. So können mit den gängigen Sequenzierungstechniken beim infantilen Subtyp in etwa 5,9% (bei E. Mornet 3,6%) nur eine Mutation und beim kindlichen Subtyp in 63% (bei E. Mornet 66,7%) zwei Mutationen des ALPL-Gens nachgewiesen werden. Zudem ist die funktionelle Bedeutung der mit den o.g. Methoden häufig nicht detektierten Intron-Mutationen des ALPL-Gens sehr komplex und noch nicht endgültig verstanden.

Die Heterozygoten-Frequenz wird von Mornet et al. mit etwa 1/270 für Frankreich angegeben und ist deutlich häufiger als die Kombination von zwei Genmutationen. Dass in unserem Kollektiv dennoch die meisten Patienten einen compound-heterozygoten Genstatus aufweisen liegt in erster Linie daran, dass die Universitätskinderklinik Würzburg eine Anlaufstelle für schwer betroffene HPP-Patienten aus ganz Deutschland ist.

7. Zusammenfassung

Die HPP ist eine seltene, angeborene Knochen- und Systemerkrankung, welche Patienten allen Alters betrifft. Verursacht wird die Erkrankung durch Mutationen im ALPL-Gen, welches für die TNSAP codiert und mit einem Funktionsverlust des Enzyms einhergeht. Die Ausprägung der klinischen Symptomatik ist sehr heterogen und reicht von milden und unspezifischen bis hin zu potenziell lebensbedrohlichen Symptomen, was die korrekte Diagnose zusätzlich erschwert und verzögert. Um das Verständnis der pädiatrischen HPP zu verbessern und die Dauer von Symptombeginn bis zur korrekten Diagnose zu verkürzen, haben wir den Verlauf der Erkrankung anhand einer retrospektiven Aufarbeitung der Daten von 50 pädiatrischen HPP Patienten, die in den letzten 25 Jahren an der Universitäts-Kinderklinik in Würzburg vorstellig waren, untersucht.

Die Kohorte besteht aus 4 Patienten (8%) mit perinataler, 17 (34%) mit infantiler und 29 (58%) mit kindlicher HPP. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren 2 Patienten mit perinatalem Subtyp verstorben. Die Diagnose HPP basierte bei 96% der Patienten auf einer erniedrigten Aktivität der AP im Serum und 88% zeigten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung HPP-typische Symptome. Bei insgesamt 58% wurde zusätzlich eine erhöhte Konzentration von AP-Substraten (PLP im Plasma, PEA im Urin) und bei 24 (48%) Patienten radiologische Auffälligkeiten zur Sicherung der Diagnose herangezogen. Die am häufigsten präsentierten Symptome sind eine Verzögerung der motorischen Entwicklung bei 78%, eine gestörte Knochenmineralisierung bei 72%, eine unklare Gedeihstörung bei 62% und ein frühzeitiger Zahnverlust bei 64% aller Patienten. Hierbei zeichnen sich die Patienten des perinatalen Subtyps durch das Auftreten potenziell lebensbedrohlicher Symptome wie zerebraler Krampfanfälle oder einer pulmonalen Insuffizienz (jeweils 100%) aus. Beim kindlichen Subtyp stehen unspezifische Symptome wie die motorische Entwicklungsstörung oder der vorzeitige Zahnverlust (jeweils 69%) im Vordergrund.

Eine genetische Analyse des ALPL-Gens wurde bei 48/50 Patienten durchgeführt (2 mit homozygotem, 35 mit compound-heterozygotem und 11 Patienten mit heterozygotem Genstatus). Das mediane Alter bei Symptombeginn betrug für alle Subtypen 3 Monate (min. 0, max. 107) und das mediane Alter bei Diagnosestellung 13 Monate (min. 0, max. 103). Betrachtet man die einzelnen Subtypen für sich, so zeigt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Symptomatik und der Dauer bis zur korrekten

Diagnosestellung: je milder und unspezifischer die Symptomatik, desto schwieriger ist es, die HPP als Ursache dieser Beschwerden auszumachen.

Diese Ergebnisse bestätigen den klinischen Eindruck der HPP als chronische Systemerkrankung, welche aufgrund ihrer unspezifischen klinischen Präsentation oftmals nur mit zeitlicher Verzögerung diagnostiziert wird. Dieser Verzögerung kommt insbesondere im Hinblick auf die 2015 zur Behandlung der pädiatrischen HPP zugelassenen ERT mit dem Wirkstoff Asfotase alfa eine besondere Bedeutung zu, da die Patienten ggf. von einer frühzeitigen Diagnose und einem damit einhergehenden frühzeitigen Beginn der Behandlung profitieren können.

Unsere Ergebnisse tragen einen Teil dazu bei, das Bewusstsein und die Kenntnis der Erkrankung zu verbessern, um so die die Zeitspanne zwischen Symptombeginn und Diagnosestellung zu verkürzen und die medizinische Versorgung der Patienten zu verbessern.

8. Anhang

8.1 Literaturverzeichnis

1. Rathbun, J.C., *Hypophosphatasia; a new developmental anomaly*. Am J Dis Child, 1948. **75**(6): p. 822-31.
2. Girschick, H.J., et al., *Bone metabolism and bone mineral density in childhood hypophosphatasia*. Bone, 1999. **25**(3): p. 361-7.
3. Girschick, H.J., H.W. Seyberth, and H.I. Huppertz, *Treatment of childhood hypophosphatasia with nonsteroidal antiinflammatory drugs*. Bone, 1999. **25**(5): p. 603-7.
4. Beck, C., et al., *Hypophosphatasie – eine seltene Knochenstoffwechselerkrankung*. Osteologie, 2009. **18**(4): p. 252-258.
5. Mornet, E. and M.E. Nunes, *Hypophosphatasia*, in *GeneReviews(R)*, R.A. Pagon, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle
University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).
6. Millan, J.L., *Alkaline Phosphatases : Structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes*. Purinergic Signal, 2006. **2**(2): p. 335-41.
7. Robison, R., *The Possible Significance of Hexosephosphoric Esters in Ossification*. Biochem J, 1923. **17**(2): p. 286-93.
8. Jemmerson, R. and M.G. Low, *Phosphatidylinositol anchor of HeLa cell alkaline phosphatase*. Biochemistry, 1987. **26**(18): p. 5703-9.
9. Kim, E.E. and H.W. Wyckoff, *Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures. Two-metal ion catalysis*. J Mol Biol, 1991. **218**(2): p. 449-64.
10. Le Du, M.H., et al., *Crystal structure of alkaline phosphatase from human placenta at 1.8 Å resolution. Implication for a substrate specificity*. J Biol Chem, 2001. **276**(12): p. 9158-65.
11. Hoylaerts, M.F., T. Manes, and J.L. Millan, *Mammalian alkaline phosphatases are allosteric enzymes*. J Biol Chem, 1997. **272**(36): p. 22781-7.
12. Sharma, U., D. Pal, and R. Prasad, *Alkaline phosphatase: an overview*. Indian J Clin Biochem, 2014. **29**(3): p. 269-78.
13. Millan, J.L. and M.P. Whyte, *Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia*. Calcif Tissue Int, 2016. **98**(4): p. 398-416.
14. Swallow, D.M., et al., *Mapping of the gene coding for the human liver/bone/kidney isozyme of alkaline phosphatase to chromosome 1*. Ann Hum Genet, 1986. **50**(Pt 3): p. 229-35.
15. Weiss, M.J., et al., *Structure of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene*. J Biol Chem, 1988. **263**(24): p. 12002-10.

16. Mornet, E., et al., *Clinical utility gene card for: hypophosphatasia - update 2013*. Eur J Hum Genet, 2014. **22**(4).
17. Hofmann, C., et al., *Clinical Aspects of Hypophosphatasia: An Update*. Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism, 2013. **11**(2): p. 60-70.
18. Mornet, E., *Molecular Genetics of Hypophosphatasia and Phenotype-Genotype Correlations*. Subcell Biochem, 2015. **76**: p. 25-43.
19. Mornet, E. *The Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase Gene Mutations Database*. 2016 February 7, 2016; Available from: http://www.sesep.uvsq.fr/03_hypo_mutations.php.
20. Whyte, M.P., *Physiological role of alkaline phosphatase explored in hypophosphatasia*. Ann N Y Acad Sci, 2010. **1192**: p. 190-200.
21. Greenberg, C.R., et al., *A homoallelic Gly317-->Asp mutation in ALPL causes the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Canadian mennonites*. Genomics, 1993. **17**(1): p. 215-7.
22. Fauvert, D., et al., *Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles*. BMC Med Genet, 2009. **10**: p. 51.
23. Whyte, M.P., et al., *Adult hypophosphatasia. Clinical, laboratory, and genetic investigation of a large kindred with review of the literature*. Medicine (Baltimore), 1979. **58**(5): p. 329-47.
24. Mornet, E., *Hypophosphatasia*. Orphanet J Rare Dis, 2007. **2**: p. 40.
25. Whyte, M.P., et al., *Alkaline phosphatase: placental and tissue-nonspecific isoenzymes hydrolyze phosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate, and pyridoxal 5'-phosphate. Substrate accumulation in carriers of hypophosphatasia corrects during pregnancy*. J Clin Invest, 1995. **95**(4): p. 1440-5.
26. Whyte, M.P., et al., *Markedly increased circulating pyridoxal-5'-phosphate levels in hypophosphatasia. Alkaline phosphatase acts in vitamin B6 metabolism*. J Clin Invest, 1985. **76**(2): p. 752-6.
27. Russell, R.G., et al., *Inorganic pyrophosphate in plasma in normal persons and in patients with hypophosphatasia, osteogenesis imperfecta, and other disorders of bone*. J Clin Invest, 1971. **50**(5): p. 961-9.
28. Meyer, J.L., *Can biological calcification occur in the presence of pyrophosphate?* Arch Biochem Biophys, 1984. **231**(1): p. 1-8.
29. Caswell, A.M., M.P. Whyte, and R.G. Russell, *Hypophosphatasia and the extracellular metabolism of inorganic pyrophosphate: clinical and laboratory aspects*. Crit Rev Clin Lab Sci, 1991. **28**(3): p. 175-232.
30. Beck, C., et al., *How can calcium pyrophosphate crystals induce inflammation in hypophosphatasia or chronic inflammatory joint diseases?* Rheumatol Int, 2009. **29**(3): p. 229-38.
31. Whyte, M.P., et al., *Enzyme-replacement therapy in life-threatening hypophosphatasia*. N Engl J Med, 2012. **366**(10): p. 904-13.

32. Fallon, M.D., M.P. Whyte, and S.L. Teitelbaum, *Stereospecific inhibition of alkaline phosphatase by L-tetramisole prevents in vitro cartilage calcification*. *Lab Invest*, 1980. **43**(6): p. 489-94.
33. Millan, J.L., *The role of phosphatases in the initiation of skeletal mineralization*. *Calcif Tissue Int*, 2013. **93**(4): p. 299-306.
34. Yadav, M.C., et al., *Skeletal Mineralization Deficits and Impaired Biogenesis and Function of Chondrocyte-Derived Matrix Vesicles in Phospho1(-/-) and Phospho1/Pi t1 Double-Knockout Mice*. *J Bone Miner Res*, 2016. **31**(6): p. 1275-86.
35. Roberts, S., et al., *Functional involvement of PHOSPHO1 in matrix vesicle-mediated skeletal mineralization*. *J Bone Miner Res*, 2007. **22**(4): p. 617-27.
36. Yadav, M.C., et al., *Loss of skeletal mineralization by the simultaneous ablation of PHOSPHO1 and alkaline phosphatase function: a unified model of the mechanisms of initiation of skeletal calcification*. *J Bone Miner Res*, 2011. **26**(2): p. 286-97.
37. Coburn, S.P., *Vitamin B-6 Metabolism and Interactions with TNAP*. *Subcell Biochem*, 2015. **76**: p. 207-38.
38. Whyte, M.P., et al., *Perinatal hypophosphatasia: tissue levels of vitamin B6 are unremarkable despite markedly increased circulating concentrations of pyridoxal-5'-phosphate. Evidence for an ectoenzyme role for tissue-nonspecific alkaline phosphatase*. *J Clin Invest*, 1988. **81**(4): p. 1234-9.
39. Anderson, B.B., et al., *Hydrolysis of pyridoxal-5'-phosphate in plasma in conditions with raised alkaline phosphate*. *Gut*, 1980. **21**(3): p. 192-4.
40. Millan, J.L. and M.P. Whyte, *Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia*. *Calcif Tissue Int*, 2015.
41. Fleshood, H.L. and H.C. Pitot, *O-phosphorylethanolamine ammonia lyase, a new pyridoxal phosphate-dependent enzyme*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1969. **36**(1): p. 110-8.
42. Street, S.E., et al., *Tissue-nonspecific alkaline phosphatase acts redundantly with PAP and NT5E to generate adenosine in the dorsal spinal cord*. *J Neurosci*, 2013. **33**(27): p. 11314-22.
43. Street, S.E., et al., *PAP and NT5E inhibit nociceptive neurotransmission by rapidly hydrolyzing nucleotides to adenosine*. *Mol Pain*, 2011. **7**: p. 80.
44. Street, S.E. and N.A. Sowa, *TNAP and Pain Control*. *Subcell Biochem*, 2015. **76**: p. 283-305.
45. Zylka, M.J., *Pain-relieving prospects for adenosine receptors and ectonucleotidases*. *Trends Mol Med*, 2011. **17**(4): p. 188-96.
46. Fraser, D., *Hypophosphatasia*. *Am J Med*, 1957. **22**(5): p. 730-46.
47. Mornet, E., et al., *A molecular-based estimation of the prevalence of hypophosphatasia in the European population*. *Ann Hum Genet*, 2011. **75**(3): p. 439-45.
48. Zurutuza, L., et al., *Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia*. *Hum Mol Genet*, 1999. **8**(6): p. 1039-46.

49. Leung, E.C., et al., *Outcome of perinatal hypophosphatasia in manitoba mennonites: a retrospective cohort analysis*. JIMD Rep, 2013. **11**: p. 73-8.
50. Shohat, M., et al., *Perinatal lethal hypophosphatasia; clinical, radiologic and morphologic findings*. *Pediatr Radiol*, 1991. **21**(6): p. 421-7.
51. Beck, C., et al., [*Hypophosphatasia*]. *Klin Padiatr*, 2009. **221**(4): p. 219-26.
52. Wenkert, D., et al., *Hypophosphatasia: nonlethal disease despite skeletal presentation in utero (17 new cases and literature review)*. *J Bone Miner Res*, 2011. **26**(10): p. 2389-98.
53. Stevenson, D.A., et al., *Autosomal recessive hypophosphatasia manifesting in utero with long bone deformity but showing spontaneous postnatal improvement*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. **93**(9): p. 3443-8.
54. Whyte, M.P., et al., *Hypophosphatasia: validation and expansion of the clinical nosology for children from 25 years experience with 173 pediatric patients*. *Bone*, 2015. **75**: p. 229-39.
55. Collmann, H., et al., *Neurosurgical aspects of childhood hypophosphatasia*. *Childs Nerv Syst*, 2009. **25**(2): p. 217-23.
56. Whyte, M.P., *Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization*. *Endocr Rev*, 1994. **15**(4): p. 439-61.
57. Whyte, M.P., et al., *Infantile hypophosphatasia: enzyme replacement therapy by intravenous infusion of alkaline phosphatase-rich plasma from patients with Paget bone disease*. *J Pediatr*, 1982. **101**(3): p. 379-86.
58. Moulin, P., et al., *Hypophosphatasia may lead to bone fragility: don't miss it*. *Eur J Pediatr*, 2009. **168**(7): p. 783-8.
59. Girschick, H.J., et al., *Effective NSAID treatment indicates that hyperprostaglandinism is affecting the clinical severity of childhood hypophosphatasia*. *Orphanet J Rare Dis*, 2006. **1**: p. 24.
60. Salles, J.P., *Clinical Forms and Animal Models of Hypophosphatasia*. *Subcell Biochem*, 2015. **76**: p. 3-24.
61. Beumer, J., 3rd, et al., *Childhood hypophosphatasia and the premature loss of teeth. A clinical and laboratory study of seven cases*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1973. **35**(5): p. 631-40.
62. Girschick, H.J., et al., *Chronic multifocal non-bacterial osteomyelitis in hypophosphatasia mimicking malignancy*. *BMC Pediatr*, 2007. **7**: p. 3.
63. Morbach, H., et al., *Autoinflammatory bone disorders*. *Clin Immunol*, 2013. **147**(3): p. 185-96.
64. Beck, C., et al., *Whole-body MRI in the childhood form of hypophosphatasia*. *Rheumatol Int*, 2011. **31**(10): p. 1315-20.
65. van den Bos, T., et al., *Cementum and dentin in hypophosphatasia*. *J Dent Res*, 2005. **84**(11): p. 1021-5.
66. Reibel, A., et al., *Orodental phenotype and genotype findings in all subtypes of hypophosphatasia*. *Orphanet J Rare Dis*, 2009. **4**: p. 6.

67. Kozlowski, K., et al., *Hypophosphatasia. Review of 24 cases.* *Pediatr Radiol*, 1976. **5**(2): p. 103-17.
68. Zankl, A., E. Mornet, and S. Wong, *Specific ultrasonographic features of perinatal lethal hypophosphatasia.* *Am J Med Genet A*, 2008. **146a**(9): p. 1200-4.
69. Brock, D.J. and L. Barron, *First-trimester prenatal diagnosis of hypophosphatasia: experience with 16 cases.* *Prenat Diagn*, 1991. **11**(6): p. 387-91.
70. Camacho, P.M., et al., *Adult Hypophosphatasia treated with Teriparatide: Report of two patients and review of the literature.* *Endocr Pract*, 2016.
71. Laroche, M., *Failure of teriparatide in treatment of bone complications of adult hypophosphatasia.* *Calcif Tissue Int*, 2012. **90**(3): p. 250.
72. Whyte, M.P., S. Mumm, and C. Deal, *Adult hypophosphatasia treated with teriparatide.* *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(4): p. 1203-8.
73. Deeb, A.A., et al., *Infantile hypophosphatasia: disappointing results of treatment.* *Acta Paediatr*, 2000. **89**(6): p. 730-3.
74. Gospe, S.M., Jr., *Pyridoxine-dependent seizures: new genetic and biochemical clues to help with diagnosis and treatment.* *Curr Opin Neurol*, 2006. **19**(2): p. 148-53.
75. Baumgartner-Sigl, S., et al., *Pyridoxine-responsive seizures as the first symptom of infantile hypophosphatasia caused by two novel missense mutations (c.677T>C, p.M226T; c.1112C>T, p.T371I) of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene.* *Bone*, 2007. **40**(6): p. 1655-61.
76. Weninger, M., et al., *Biochemical and morphological effects of human hepatic alkaline phosphatase in a neonate with hypophosphatasia.* *Acta Paediatr Scand Suppl*, 1989. **360**: p. 154-60.
77. Millan, J.L., et al., *Enzyme replacement therapy for murine hypophosphatasia.* *J Bone Miner Res*, 2008. **23**(6): p. 777-87.
78. Hofmann, C., et al., *Recombinant Enzyme Replacement Therapy in Hypophosphatasia.* *Subcell Biochem*, 2015. **76**: p. 323-41.
79. Mornet, E., *Genetics of hypophosphatasia.* *Arch Pediatr*, 2017. **24**(5s2): p. 5s51-5s56.
80. Grimberg, A., et al., *Medically underserved girls receive less evaluation for short stature.* *Pediatrics*, 2011. **127**(4): p. 696-702.
81. Whyte, M.P., et al., *Asfotase Alfa Treatment Improves Survival for Perinatal and Infantile Hypophosphatasia.* *J Clin Endocrinol Metab*, 2016. **101**(1): p. 334-42.
82. Whyte, M.P., et al., *Asfotase alfa therapy for children with hypophosphatasia.* *JCI Insight*, 2016. **1**(9): p. e85971.
83. Briot, K. and C. Roux, *Adult hypophosphatasia.* *Arch Pediatr*, 2017. **24**(5s2): p. 5s71-5s73.
84. Schmidt, T., et al., *Clinical, radiographic and biochemical characteristics of adult hypophosphatasia.* *Osteoporos Int*, 2017. **28**(9): p. 2653-2662.

85. Saraff, V., et al., *A Diagnostic Algorithm for Children with Low Alkaline Phosphatase Activities: Lessons Learned from Laboratory Screening for Hypophosphatasia*. J Pediatr, 2016. **172**: p. 181-186.e1.
86. Lum, G., *Significance of low serum alkaline phosphatase activity in a predominantly adult male population*. Clin Chem, 1995. **41**(4): p. 515-8.
87. Deeb, A. and A. Elfatih, *Could Alerting Physicians for Low Alkaline Phosphatase Levels Be Helpful in Early Diagnosis of Hypophosphatasia?* J Clin Res Pediatr Endocrinol, 2018. **10**(1): p. 19-24.
88. Whyte, M.P., et al., *Hypophosphatasia: Biochemical hallmarks validate the expanded pediatric clinical nosology*. Bone, 2018. **110**: p. 96-106.
89. Whyte, M.P., *Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment*. Nat Rev Endocrinol, 2016.
90. Hofmann, C., et al., *Unexpected high intrafamilial phenotypic variability observed in hypophosphatasia*. Eur J Hum Genet, 2014. **22**(10): p. 1160-4.

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Struktur der humanen placentaren Alkalischen Phosphatase	3
Abbildung 2:	Häufigkeiten der verschiedenen Mutationsarten	4
Abbildung 3:	Schaubild der Knochenmineralisierung (nach Mornet und Millan).....	7
Abbildung 4:	Einteilung der Patienten des Kollektivs nach Geburtsjahr	25
Abbildung 5:	Übersicht des Patientenkollektivs mit Aufteilung nach Geschlecht und Subtyp ..	26
Abbildung 6:	Verteilung der HPP-Subtypen in unserem Patientenkollektiv	26
Abbildung 7:	Medianes Alter bei Symptombeginn, Diagnosestellung sowie die mediane Dauer bis zur Diagnosestellung.....	27
Abbildung 8:	Diagnostisierende Einrichtungen	28
Abbildung 9:	Dokumentierte Auffälligkeiten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung	29
Abbildung 10:	Häufigkeiten der klinischen Auffälligkeiten für die HPP-Subtypen	33
Abbildung 11:	Mediane Laborwerte in unserem Patientenkollektiv (Boxplot-Darstellung)	36
Abbildung 12:	Verteilung der 78 in unserer Patientenkohorte gefundenen Exon-Mutationen auf die 12 Exons des ALPL-Gens	39
Abbildung 13:	Häufigkeit der verschiedenen Mutationsarten in unserem Kollektiv	40
Abbildung 14:	Hilfreiche diagnostische Werkzeuge zur Diagnosestellung der HPP.....	47
Abbildung 15:	Diagnostischer Algorithmus der HPP mit den häufigsten „Pitfalls“	49

8.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Normwerte der für die Diagnose der HPP wichtigen Laborparameter	13
Tabelle 2:	Häufigkeiten der HPP-Subtypen in unserem Patientenkollektiv.....	26
Tabelle 3:	Medianes Alter der Patienten bei Symptombeginn und Diagnosestellung sowie mediane Dauer bis zur Diagnosestellung	27
Tabelle 4:	Erste Symptome im Rahmen der HPP.....	30
Tabelle 5:	Andere Verdachtsdiagnosen vor der korrekten HPP-Diagnose	31
Tabelle 6:	Klinische Auffälligkeiten im Rahmen der HPP	32
Tabelle 7:	Mediane Laborwerte in unserem Patientenkollektiv	35
Tabelle 8:	Häufigkeit der HPP-Subtypen in Bezug auf den Genstatus	37
Tabelle 9:	ALPL-Mutationen unseres Patientenkollektivs.....	38
Tabelle 10:	Häufigkeiten der Mutationsarten in unserem Patientenkollektiv	39
Tabelle 11:	Bislang nicht publizierte Genmutationen unserem Patientenkollektiv.....	40
Tabelle 12:	Häufigkeiten der in unserer Patientenkohorte vorkommenden Mutationen.....	41
Tabelle 13:	Symptomatik der Patienten mit dem Genotyp p.Glu191Lys/p.Gly334Asp	42

8.3 Abkürzungsverzeichnis

Abb. <i>Abbildung</i>	ng <i>Nanogramm</i>
ADP <i>Adenosindiphosphat</i>	NSAIDs <i>non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
Asp <i>Asparagin</i>	NT5E <i>Ecto-5'-Nukleotidase</i>
ATP <i>Adenosintriphosphat</i>	o.g. <i>oben genannt</i>
Ca <i>Calcium</i>	OMIM <i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
CNO <i>chronische nicht-bakterielle Osteomyelitis</i>	P <i>Phosphat</i>
del <i>deletion</i>	PAP <i>Prostata-spezifische saure Phosphatase</i>
DEXA <i>dual energy x-ray absorptiometry</i>	PCR <i>polymerase chain reaction</i>
DNS <i>Desoxyribonukleinsäure</i>	PEA <i>Phosphoethanolamin</i>
E.coli <i>Escherichia coli</i>	pH <i>potentia hydrogenii</i>
e.V. <i>eingetragener Verein</i>	PHOSPHO <i>Phosphatase Orphan-1</i>
ENPP1 <i>Ektonukleotid-Pyrophosphatase 1</i>	P _i <i>anorganisches Phosphat</i>
ERT <i>enzyme replacement therapy</i>	PL <i>Pyridoxal</i>
GABA <i>γ-Aminobuttersäure</i>	PLAP <i>placental alkaline phosphatase</i>
GCAP <i>germ cell alkaline phosphatase</i>	PLP <i>Pyridoxal-5'-Phosphat</i>
ggf. <i>gegebenenfalls</i>	PPi <i>Pyrophosphat</i>
Gly <i>Glycin</i>	pQCT <i>peripherer quantitativer Computertomografie</i>
GPI <i>Glykosylphosphatidylinositol</i>	PTH <i>Parathormon</i>
HPP <i>Hypophosphatasie</i>	sog. <i>sogenannt</i>
IAP <i>intestinal alkaline phosphatase</i>	St. <i>Saint</i>
ICD <i>International Classification of Diseases</i>	Tab. <i>Tabelle</i>
ins <i>insertion</i>	TNSAP <i>tissue non-specific alkaline phosphatase</i>
Kap. <i>Kapitel</i>	U <i>Units</i>
kb <i>Kilobase</i>	u.a. <i>unter anderem</i>
l <i>Liter</i>	Vit. <i>Vitamin</i>
mmol <i>millimol</i>	z.B. <i>zum Beispiel</i>
MRT <i>Magnetresonanztomografie</i>	z.T. <i>zum Teil</i>
n <i>Anzahl</i>	μg <i>Mikrogramm</i>

Danksagung

Mein Dank gilt all denen, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben.

Besonders danken möchte ich meiner Doktormutter und Betreuerin Priv.-Doz. Dr. Christine Hofmann für die Überlassung dieses Themas und für ihre direkte und stets freundliche Unterstützung im Entstehungsprozess dieser Arbeit.

Dank gilt auch der Studienassistentin der Kinderklinik Lisa Lambers für ihre freundliche Art und ihre Hilfe bei der Datenakquirierung.

Und zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern Martina und Lothar Vogt sowie meinen beiden lieben Schwestern Elisabeth und Anna-Maria Vogt bedanken, auf deren uneingeschränkte Unterstützung und Hilfe ich mich in allen Lebenslagen verlassen kann und die mir immer ein Rückhalt sind sowie bei Dr. Friederike Winde für ihre Geduld, ihr Verständnis und die nötige Motivation.