

Unterschiedliche Möglichkeiten der Diagnosefindung bei Kindern mit Pyruvatkinasemangel (PKM)

Christopher Diakos¹, Fiona Poyer¹, Oskar A. Haas^{1,2}, Kaan Boztug^{1,3,4} und Leo Kager^{1,2}

¹St. Anna Kinderspital, UKJ, MUW, ²Children's Cancer Research Institute ³CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences, ⁴Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, Wien.



MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA



medgen.at
Genetische Diagnostik & Beratung

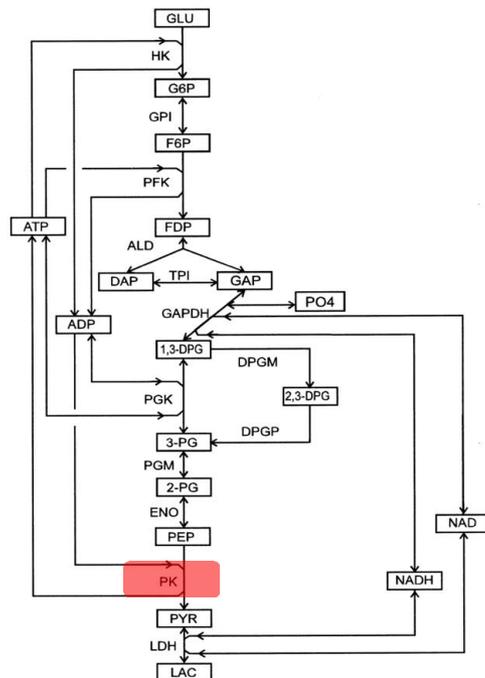
Ce-M-M-

Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences



Ludwig Boltzmann Institute
Rare and Undiagnosed Diseases

Glycolysis in Human Erythrocytes



Pyruvatkinase Mangel (PKM) ist ein Enzymdefekt im Glycolysestoffwechsel von Erythrozyten (RBC) und eine Ursache der **chronischen nicht sphärozytischen hämolytischen Anämie (CNSHA)**.

Die RBC PK ist durch das **PKLR Gen** codiert. PKM ist eine autosomal rezessive Erkrankung und **>200 unterschiedliche Mutationen** sind im Bereich des **PKLR** Gens beschrieben.

Die Diagnose wird durch den Nachweis einer **Verminderung der RBC PK-Enzymaktivität** gestellt, diese ist jedoch nach erfolgter Transfusion nicht aussagekräftig.

Der **Verlauf** ist je nach verbliebener enzymatischer Restaktivität **variabel** – bei schwerem PKM sind regelmäßige Erythrozyten Transfusionen erforderlich.

Patientin 1 (4 Jahre)

- schwere transfusionsabhängige CNSHA
- **reduzierte RBC PK Aktivität der Eltern** → Verdacht PKM
- **Sanger Sequenzierung des *PKLR* Gens** und der Promotor Region
- bisher noch nicht beschriebene **paternal vererbte 5bp Deletion** im Promotor (c.-88_-84delTCTCT); Abb. 1 und 2
- **maternal vererbte Missense Mutation** im Exon 9 (c.1174G>A)
- nicht tolerierbar (Prädiktionsprogramme Polyphen-2 und SIFT [PBC 2016; 63:914])

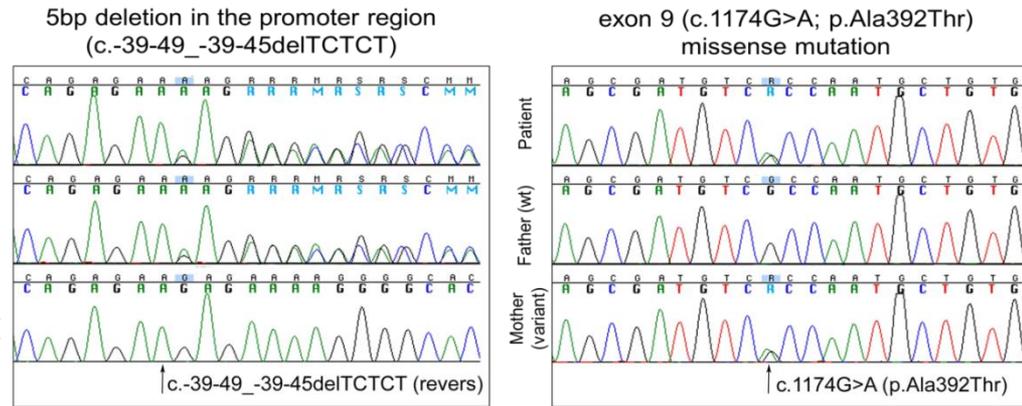


Abbildung 1. Chromatographie der identifizierten *PKLR* Varianten (Patientin 1)

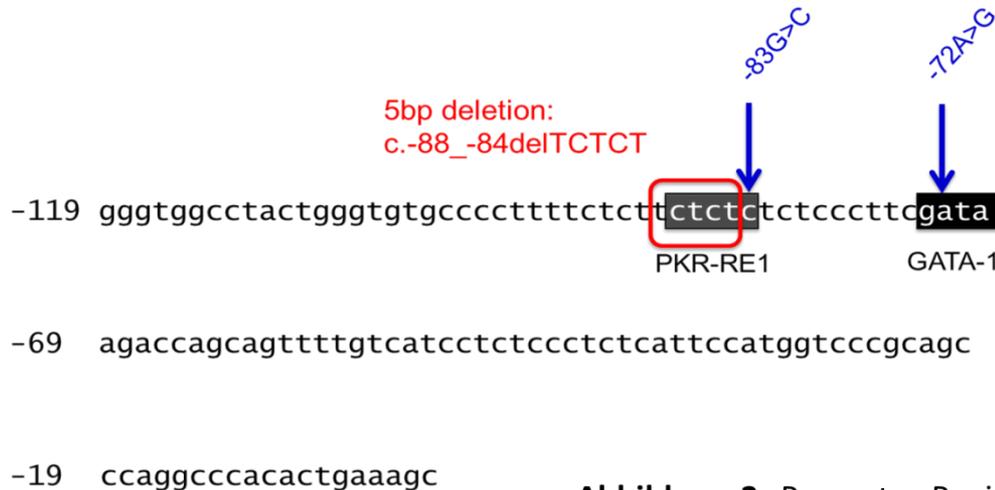


Abbildung 2. Promotor-Region des *PKLR* Gens. Die nachgewiesene 5bp Deletion (Patientin 1, rot umrandet) umfasst eines der beiden regulatorischen Elemente (schwarz eingefärbt). Die blauen Pfeile zeigen die beiden in dieser Region bisher bekannten, mit PKM assoziierten Missense-Mutationen [Blood 2003;101(4):1596-1602; Br J Haematol 2000; 110:993-997; PNAS 2016; 113:4434-4439].

Patientin 2 (6 Jahre)

- mittelschwere Form einer CNSHA, zahlreiche Transfusionen (bisher 23 Erythrozytenkonzentrate), V.a. congenitale dyserythropoetische Anämie (Dyserythropoese im Knochenmark)
- **PK Aktivität der Eltern normal**
- Auf **Next Generation Sequencing** basierendes Mutationsscreening mittels Hämatologie-Panel (Illumina HiSeq3000, Abb. 4) → bereits beschriebene homozygote Mutation im *PKLR* Gen (c.1675C>G)
- mittels **Sanger Sequenzierung** bestätigt
- Splenektomie geplant

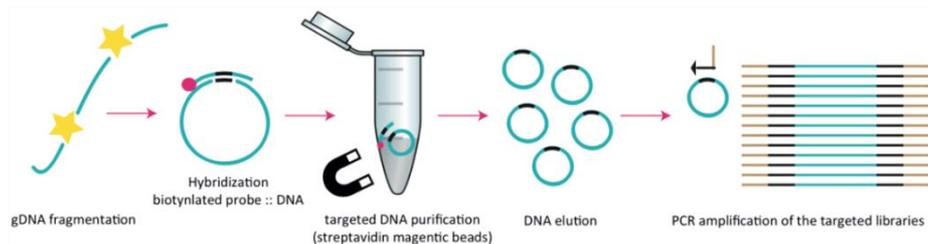


Abbildung 4. NGS basierendes Mutationsscreening mittels Hämatologie Panel (Illumina HiSeq3000).

Targeted mutation screening of 292 candidate genes in 38 children with inborn haematological cytopenias efficiently identifies novel disease-causing mutations

Zusammenfassung

Bei transfusionsabhängiger CNSHA und V.a. PKM - Messung der **PK Aktivität VOR erster Transfusion!**

- Falls verabsäumt oder unmöglich → **PK Aktivität der Eltern** messen
 - erniedrigt → **Sanger Sequenzierung** des *PKLR* Gens
 - normal → auf **Next Generation Sequencing** basierendes Mutationscreening

